Medical
Harv.
Coll. 1

Inhalt.

Seite

Abelin, I. und **B. Kobori.** Über die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe. VI. Mitteilung: Spezifisch-dynamische Wirkung und Kohlehydratumsatz 3

Pincussen, Ludwig. Methodische Mitteilungen. VII 28

Kultjugin, Alexei. Über die Beeinflussung des Fettstoffwechsels durch Belichtung 36

Wohlgemuth, J. Die Fermente der Haut. VII.: **Toshisuke Ikebata,** Über Milchsäurebildung in der Haut und ihre Beeinflussung durch verschiedene Strahlenarten 43

Bickel, A. und **I. Remesow.** Über die Beeinflussung des Harnquotienten C : N durch die Nahrungszusammensetzung unter besonderer Berücksichtigung der Aminosäuren 54

Remesow, Igor. Weitere Untersuchungen über den Einfluß der Verfütterung aktiven Eisenoxyds auf den Stoffwechsel unter besonderer Berücksichtigung der N-Bilanz und des Verhaltens des Harnquotienten C : N 64

Asher, L. und **N. Scheinfinkel.** Die Umstimmung pharmakologischer Wirkungen, insbesondere autonomer Nervenendgifte durch oberflächenaktive Stoffe 87

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 107: **George M. Curtis,** Fortgesetzte Untersuchungen über die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica. Die Blockierung der normalen Reaktion durch die intraperitoneale Injektion von destilliertem Wasser . . 95

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 108: **George M. Curtis** und **Noel F. Shambaugh,** Fortgesetzte Untersuchungen über die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica. Die Blockierung der normalen Reaktion bei Kaninchen mit entnervten Nieren . . . 112

Molitor, Hans und **Ernst P. Pick.** Über zentrale Regulation des Wasserwechsels. IV. Mitteilung: Die Aufhebung der diuretischen Coffein- und Theobrominwirkung durch Zwischenhirnnarkose 130

Fürth, Otto und **Otto Deutschberger.** Über den Argininge halt einiger Proteine sowie normaler und amyloidhaltiger Organe 139

London, E. S. und **L. M. Rabinkowa.** Die Verteilung des Sauerstoffs auf einzelne Organe nach Versuchen an angiostomierten Hunden . . . 155

Laubender, Walther. Eine Mikroharnstoffbestimmung im Harn ohne Urease 158

Winterstein, Hans und **Else Hirschberg.** Über Löslichkeit und Verteilung des Chloroforms im Blute 172

Bickel, A. und **C. van Eweyk.** Über die Eigenschaften aktiver Eisenverbindungen 178

Spiegel-Adolf, Mona. Physikalisch-chemische Untersuchungen bestrahlter Proteine. I. Mitteilung: Die Veränderungen des Seralbumins bei Ultraviolettbestrahlung und ihre Beziehungen zur Hitzegerinnung 181

Seite

Löhner, L. Über die Beeinflussung der Strahlen- und Wasserhämolyse durch Arsen 194

Hausmann, W. und **O. Krumpel.** Über die Absorption der Porphyrine im Ultraviolett 203

Brehme, Th. und **P. György.** Untersuchungen über Höhenklimawirkung 213

Scheunert, Arthur und **Martin Schieblich.** Über das verschiedene Verhalten von Tauben und Hühnern bei Deckung ihres Vitamin-B-Bedarfs durch frisches grünes Pflanzenmaterial 222

— — Weiterer Beitrag zum Vitamingehalt des Bieres 229

Brahm, C. Über die bei der Sauerfutterbereitung entstehenden flüchtigen Fettsäuren. II. Unter Mitarbeit von Gertrud Andresen und Ruth Prillwitz 232

Bornstein, A. und **R. D. Loewenberg.** Über die Rolle des Pankreas bei einigen toxischen Glykämien. I 243

Abderhalden, Emil und **Ernst Wertheimer.** Versuche über den Einfluß des Geschlechts auf die Alkoholwirkung 252

Völtz, W. und **W. Kirsch.** Der Nachweis des antirachitischen Faktors bei im Dunkeln und hinter Fensterglas gewachsenen Gräsern . . . 255

Paechtner, J. Ein Beitrag zur Technik des Respirationsversuchs nach J. Geppert und N. Zuntz 264

Wolffenstein, R. und **J. Reitmann.** Zur Kenntnis des Sparteins . . . 269

Benedict, Francis G. und **Cornelia Golay Benedict.** Perspiratio insensibilis: Ihr Wesen und ihre Ursachen 278

Mayer, Paul. Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrat-phosphorsäure-ester auf die Angärung des Traubenzuckers 313

Nagelschmidt, Günter. Gestufte phytochemische Reduktion. 317

— Über die Fällbarkeit der Diaminosäuren durch Mercuriacetat und Soda 322

Klar, Ludwig. Ketonaldehydmutase in Weizen- und Roggenkörnern sowie in Sojabohnen 327

Neuberg, Carl und **Ernst Simon.** Über die quantitative Dismutation des Methylglyoxals zu Milchsäure durch den Bacillus Delbrücki, sowie durch das Bacterium lactis aerogenes nebst Versuchen über das abweichende stereochemische Verhalten des Phenylglyoxals bei dieser Reaktion 331

Samec, M. Studien über Pflanzenkolloide. XVIII. Mitteilung: Zur Kenntnis der Weizenstärke 337

Imhäuser, K. Über das Vorkommen des Plasmalogens. II. Mitteilung: Über das Vorkommen des Plasmalogens bei Tieren 360

Lebedew, A. Über die Zucker- und Brenztraubensäuregärung 376

Mudd, Stuart und **Emily B. H. Mudd.** Untersuchungen über die Zusammensetzung der Zellmembran auf Grund einer neuen Methode zur Bestimmung der Oberflächenspannung. 378

Leites, S. Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel. IV. Mitteilung: Über die Rolle des retikulo-endothelialen Systems im Fett- und Lipoidstoffwechsel 391

Seite

Gorbatscheff, S. W. und **E. N. Winogradowa.** Die hygroskopischen Eigenschaften von Watte und ihres Verkohlungsproduktes . . . 413

Petrányi, Győző. Über die biochemischen Zusammenhänge zwischen Körperzustand, Ernährung und Resistenz der roten Blutzellen . . 419

Leites, S. Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel. V. Mitteilung: Über die Rolle der Milz im Fett- und Lipoidstoffwechsel 436

Müller, Helmut. Über den „Oxydationsquotienten" 451

Genevois, Louis. Über Atmung und Gärung in grünen Pflanzen . . 461

Rippel, August und **Kurt Walter.** Über den Stickstoffgehalt des Aspergillins 474

Krebs, Hans Adolf und **David Nachmansohn.** Vitalfärbung und Adsorption 478

Jørgensen, Holger. Über die Verwendung von Chromatlösungen als Vergleichslösungen bei kolorimetrischen Messungen 485

Autorenverzeichnis 490

ADOLF LOEWY

IN DAVOS

GEWIDMET

Über die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe.

VI. Mitteilung:

Spezifisch-dynamische Wirkung und Kohlehydratumsatz.

Von

I. Abelin und **B. Kobori**.

(Ausgeführt mit Unterstützung der *Ella Sachs-Plotz Foundation*, New York.)

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 9. Februar 1927.)

Mit dem Ausdruck „spezifisch-dynamische Wirkung" bezeichnete *Rubner* die Erhöhung der Wärmebildung nach Nahrungsaufnahme. Das Schicksal dieser mehr gebildeten Wärme ist verschieden. Bei niederer Umgebungstemperatur, wenn sich der Organismus im Zustande der chemischen Wärmeregulation befindet, kann diese Extrawärme zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur herangezogen werden. Ist aber, wie das beim Menschen meist der Fall ist, die chemische Wärmeregulation ausgeschaltet, so findet dieser Wärmezuschuß keine Verwendung und wird nach außen abgegeben. Diese Wärme kann nicht für die Leistung mechanischer Arbeit oder für andere biologische Prozesse verwendet werden. Unter der Benutzung der üblichen Schreibweise kann der Umsatz der chemischen Energie der Nahrungsstoffe formuliert werden als:

$$U_{(\text{Nahrungsstoffe})} = F + Q,$$

wobei wir unter „Q" denjenigen Teil der chemischen Energie verstehen wollen, der nach Nahrungsaufnahme als Wärme erscheint [die sogenannte „primäre Wärme" von *C. Oppenheimer*[1])]. Diese Wärme stellt den irreversiblen Anteil der Reaktion dar. F bedeutet alle übrigen Energieformen mit Ausnahme der Wärme. Man hat eine Zeitlang vermutet, die Moleküle der Nahrungsstoffe enthalten bestimmte Atomgruppen, deren Vorrat an chemischer Energie nur in Form von Wärme ausgenutzt werden kann. Die spezifisch-dynamische Wirkung wäre

[1]) *C. Oppenheimer*, Handb. d. Biochem., 2. Aufl., **2**, 222, 1925.

(B. 12.1.27)

demnach durch eine bestimmte chemische Struktur der Nahrungsstoffe bedingt. In diesem Falle müßte aber die spezifisch-dynamische Wirkung des gleichen Nahrungsstoffes immer konstant bleiben, was durchaus nicht der Fall ist. Es zeigte sich sehr bald, daß die Größe der Wärmevermehrung nicht nur vom Nahrungsstoff, sondern auch vom Zustande des Organismus abhängt. Wir wissen heute, daß weniger die Natur der Nahrung als vielmehr die Art und Weise, *wie* der aufgenommene Nahrungsstoff vom Körper verarbeitet wird, entscheidend ist für das Maß der spezifisch-dynamischen Wirkung. Um extreme Fälle anzuführen, mag bemerkt werden, daß es Zustände gibt, in denen die chemische Energie der Nahrungsstoffe sehr vorteilhaft ausgenutzt wird. Beispiele dieser Art liefern das Wachstum, die Nahrungsverwertung nach Hunger, nach erschöpfenden Infektionskrankheiten usw. Andererseits gibt es Fälle, wo ein großer Teil des chemischen Potentials des Nahrungsstoffes in unnützer Form als Wärme erscheint. Von der gesamten chemischen Energie der Nahrungsstoffe steht dann dem Organismus für seine biologischen Zwecke nur ein geringer Anteil zur Verfügung. Ein typisches Beispiel dafür liefert das Verhalten der spezifisch-dynamischen Wirkung nach Verfütterung von wirksamer Schilddrüsensubstanz, wo nach Nahrungszufuhr innerhalb weniger Stunden ein beträchtlicher Anteil der zugeführten chemischen Energie in Form von Wärme an die Außenwelt abgegeben wird. *Die Aufnahme von Schilddrüsensubstanz hat also zur Folge, daß die chemische Energie der Nahrungsstoffe bedeutend weniger rationell ausgenutzt wird.* Die unökonomische Verwertung der chemischen Energie zeigt sich in diesem Falle nicht nur in der Zunahme der spezifisch-dynamischen Wirkung, sondern auch in der Erhöhung des Grundumsatzes und in dem verminderten, sehr unrentablen Arbeitsvermögen der mit Schilddrüse behandelten Tiere oder der an Basedow erkrankten Menschen. All dieses ist die logische Folge der gestörten Ausnutzung der chemischen Energie. Der Grundumsatz, sowie der Arbeitsstoffwechsel spielen sich auf Kosten der chemischen Energie der Körperstoffe ab. Sobald aber durch den gestörten Stoffwechselprozeß der Umsatz der chemischen Energie so geleitet wird, daß bedeutend mehr „Q" entsteht als normal, dann muß dieses eine Verminderung von „F" zur Folge haben. Um das gleiche zu leisten, muß in diesem Falle ein größerer Vorrat von chemischer Energie umgesetzt werden, damit genügend „F" entsteht. Dieses ist aber gleichbedeutend mit einer Erhöhung des Gesamtstoffwechsels, sei es bei Leistung „innerer" (Grundumsatz) oder „äußerer" (mechanischer) Arbeit. *Steigerung des Grundumsatzes, abnorme Erhöhung der spezifisch-dynamischen Wirkung und unökonomischer Arbeitsstoffwechsel, die nach Schilddrüsenaufnahme auftreten, lassen sich auf die nämliche Ursache zurückführen und bedeuten im Grunde genommen das gleiche.*

Auf die hochinteressante Tatsache, daß bei Basedow und bei mit Schilddrüse behandelten Tieren die mechanische Arbeitsleistung weit weniger ökonomisch verläuft, haben in neuerer Zeit *W. M. Boothby* und *J. Sandiford*[1]), *L. Asher* und *G. M. Curtis*[2]), sowie *F. Kisch*[3]) hingewiesen. Da für unsere Lebensfunktionen die chemische Energie der Nahrungs- oder Körperstoffe die einzige Energiequelle darstellt,so ist es klar, daß eine hochgradige Störung der richtigen Ausnutzung dieser Energie mit einem Fortdauern des Lebens unvereinbar ist. Es treten gewöhnlich in solchen Fällen regulatorische Prozesse auf, welche eine Reduktion der zu hohen spezifisch-dynamischen Wirkung und sogar eine Herabsetzung derselben unterhalb der Normalwerte bewirken. Diese Frage wurde in der ersten Mitteilung dieser Beiträge ausführlich besprochen[4]).

Aus diesen Erörterungen geht deutlich hervor, welch große Bedeutung der Erforschung der Nahrungsverwertung zukommt. Wie die klinischen Erfahrungen der letzten Jahre gezeigt haben, wird die Ermittlung der spezifisch-dynamischen Wirkung für diagnostische Zwecke erst dann herangezogen werden können, wenn die theoretische Einsicht in das Wesen dieses Vorganges besser begründet ist. Solange das Phänomen an sich nicht abgeklärt ist, können wir natürlich auch dessen Abweichungen nicht richtig deuten.

Über die Ursache der spezifisch-dynamischen Wirkung wurde in letzter Zeit eine Reihe von Ansichten geäußert, von denen einige zur Lösung des Problems wesentlich beitragen können. Unstreitbar ist natürlich die Tatsache, daß „Q" nur dann auftritt, wenn es zu einem Umsatz der chemischen Energie („*U*") kommt. Ohne „*U*" ist auch eine spezifisch-dynamische Wirkung nicht möglich, oder mit anderen Worten, die spezifisch-dynamische Wirkung ist eine Begleiterscheinung des allgemeinen Umsatzes der Nahrungsstoffe. Wenn dieses auch meistens zugegeben wird und wenn fast allgemein angenommen wird, daß die spezifisch-dynamische Wirkung mit den intermediären Stoffwechselvorgängen nach Nahrungsaufnahme zusammenhängt, so ist es noch nicht entschieden, welche Prozesse es eben sind. Man hat an die Desaminierung der Aminosäuren als den wirksamen Faktor gedacht [*E. Grafe*[5]), *E. Terroine, S. Trautmann, R. Bonnet*[6])]. Auch die Um-

[1]) *W. M. Boothby* und *J. Sandiford*, Journ. of the Americ. med. Assoc. **81**, 795, 1923.

[2]) *L. Asher* und *G. M. Curtis*, diese Zeitschr. **164**, 97, 1925; **167**, 321, 1926.

[3]) *F. Kisch*, Klin. Wochenschr., **5**, 697, 1926.

[4]) *J. Abelin*, diese Zeitschr. **137**, 273, 1923.

[5]) *E. Grafe*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **118**, 1, 1915.

[6]) *E. Terroine, S. Trautmann, R. Bonnet*, Bull. d. l. Soc. d. Chim. biol. **7**, 351, 1925.

bildung der Aminosäuren in Keto- oder Oxysäuren wurde von *G. Lusk* als Erklärung der spezifisch-dynamischen Wirkung herangezogen. Doch haben alle diese Hypothesen kein festes Fundament finden können, und selbst *G. Lusk*, der zu den besten Kennern der Frage der spezifisch-dynamischen Wirkung gehört, kommt neuerdings zu dem Schluß, daß es zurzeit unmöglich ist, eine befriedigende Erklärung des Phänomens zu geben[1]). In ihrer Totalität wird die spezifisch-dynamische Wirkung noch lange unerklärt bleiben, doch würde es einen großen Fortschritt bedeuten, wenn es gelingen sollte, wenigstens die wesentlichsten Faktoren dieser Erscheinung aufzuklären. Hier scheint uns ein Gedanke fruchtbar zu sein, der schon vor langer Zeit geäußert wurde, der in Vergessenheit geriet, der aber periodisch wiederkehrt, nämlich die Beziehung des Nahrungsstoffwechsels zum Kohlehydratstoffwechsel. Gestützt auf ältere Versuche von *Seegen*, *Chaveau*, *Külz* u. a., hat *M. Rubner* bereits vor 25 Jahren die Ansicht geäußert, daß die spezifisch-dynamische Eiweißwirkung mit der Umarbeitung des Eiweißes in Kohlehydrat zusammenhängt. Nach *Rubner* „würde die Theorie der Kohlehydratabspaltung der spezifisch-dynamischen Wirkung des Eiweißes und der N-haltigen Nahrungsstoffe überhaupt zugrunde zu legen sein und aus chemischen wie auch aus biologischen Gründen Beachtung verdienen"[2]). Auffallenderweise hat aber diese Ansicht weniger Beachtung gefunden als eine andere Meinungsäußerung *Rubners*, wonach es sich bei der spezifisch-dynamischen Wirkung um einen Reiz auf die Zellen handeln soll. Der Ausdruck „Reiz" erklärt den Vorgang der spezifisch-dynamischen Wirkung nicht und stellt mehr eine Umschreibung als eine Deutung der Erschließung dar.

In neuerer Zeit wurde von verschiedener Seite auf die Bedeutung der Kohlehydratbildung für die spezifisch-dynamische Wirkung hingewiesen. *H. Chr. Geelmuyden*[3]) hat diese Frage einer besonders eingehenden Analyse unterzogen. Ebenso wie bei der Resynthese des Muskelglykogens ein Teil der Milchsäure verbrennen muß, um die für die Reaktion nötige Energie zu liefern, ebenso kann die Zuckerbildung bei der chemischen Verarbeitung der Nahrungsstoffe nicht ohne Zufuhr äußerer Energie erfolgen. Ein Teil der chemischen Arbeit kann durch exotherme Reaktionen bei der Zuckerbildung selbst geleistet werden. Der *Hauptanteil* entsteht aber nach *Geelmuyden* durch Kohlehydratverbrennung. In diesem Falle wird aber nach dem zweiten thermodynamischen Hauptsatz die chemische Arbeit ohne Wärmeverlust nicht vollbracht werden können. *„Dieser Wärmeverlust bildet eben die spezifisch-dynamische Wirkung des Eiweißes und des Fettes"*[4]). Zu diesem Schluß gelangt *Geelmuyden* auf Grund seiner Auf-

[1]) Vgl. *R. Weiss* und *D. Rapport*, Journ. of biol. Chem. **60**, 513, 1924.
[2]) *M. Rubner*, Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung, S. 389. Leipzig und Wien, Franz Deuticke, 1902.
[3]) *H. Chr. Geelmuyden*, Ergebn. d. Physiol. **24**, 1, 1925.
[4]) *Derselbe*, ebendaselbst **24**, 17, 1925; Sperrdruck im Original.

fassung über die überragende Bedeutung der Kohlehydratbildung für den Organismus und auf Grund von gewissen thermochemischen Berechnungen, die in seiner zusammenfassenden Darstellung enthalten sind. Ähnliche Berechnungen wie *Geelmuyden* hat auch *E. Aubel*[1]) durchgeführt. Er weist auf die große Bedeutung des Auftretens von gekoppelten Reaktionen für die Erklärung der spezifisch-dynamischen Wirkung hin. Eine besonders anregende Schilderung der dazu gehörenden Probleme hat neuerdings *J. E. Johannson*[2]) gegeben. Ferner haben *O. Meyerhof, K. Lohmann* und *R. Meier*[3]) experimentell festgestellt, daß gewisse Aminosäuren eine Oxydationssteigerung in der überlebenden Leber veranlassen, und daß die Zunahme der Oxydation von einer Desaminierung begleitet wird. Fehlte die Desaminierung, so blieb auch die Oxydationserhöhung aus. Am wirksamsten erwiesen sich bei der Leber Alanin und Asparagin. Glutaminsäure und Tyrosin haben schwächer gewirkt, fast ganz unwirksam war Glykokoll. (Es sei hier bemerkt, daß in den Versuchen von *G. Lusk, E. Grafe* am intakten Tier gerade Glykokoll am stärksten wirksam war.) Nach *O. Meyerhof* und seinen Mitarbeitern kann die spezifisch-dynamische Wirkung des Eiweißes so erklärt werden, daß die desaminierten Aminosäuren in Gegenwart von Sauerstoff auf dem Wege über Milchsäure oder Brenztraubensäure zu Kohlehydrat synthetisiert werden.

Von ganz anderem Gesichtspunkt ausgehend, ist der eine von uns im Laufe der Jahre ebenfalls zu der Ansicht gekommen, daß der Kohlehydratstoffwechsel für die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe von Bedeutung ist. In früheren Untersuchungen wurde auf die Bedeutung des vegetativen Nervensystems für die Stoffwechselvorgänge und für die spezifisch-dynamische Wirkung hingewiesen und zugleich die enge Beziehung der vegetativ erregenden Substanzen zum Kohlehydratstoffwechsel analysiert. Eine große Reihe von vegetativ wirksamen Stoffen (wie Schilddrüsensubstanz, Tyramin, Phenyläthylamin, Adrenalin und andere) beeinflussen den Kohlehydratstoffwechsel, verändern aber zugleich den Grundumsatz und die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe. Besonders ausgesprochen ist diese Eigenschaft bei den Schilddrüsensubstanzen, welche neben den schweren Veränderungen im Kohlehydratstoffwechsel auch eine sehr starke Erhöhung der spezifisch-dynamischen Wirkung des Eiweißes und Zuckers und selbst des Fettes bewirken. Eine ausführliche Schilderung dieser Thyreoideawirkung ist in den früheren Mitteilungen enthalten[4]). Aber nicht nur bei den Thyreoideapräparaten, auch in manchen anderen Fällen findet man ein Zusammentreffen der drei Faktoren: a) Veränderung im

[1]) *E. Aubel*, L'action dynamique spécifique, Ann. de phys. et de physicochimie biologique **1**, 31, 1925.

[2]) *J. E. Johansson*, Lehrb. d. physiol. Chem. von *O. Hammarsten*, 11. Aufl., 1926, S. 714.

[3]) *O. Meyerhof, K. Lohmann* und *R. Meier*, diese Zeitschr. **157**, 459, 1925.

[4]) Vgl. *J. Abelin*, diese Zeitschr. **129**, 1, 1922; **137**, 273, 1923; **149**, 109, 1924; **154**, 52, 1924; Klin. Wochenschr. 1922 und 1923.

Kohlehydratumsatz, b) Erhöhung des Gesamtstoffwechsels und c) Zunahme der spezifisch-dynamischen Wirkung. Ein interessantes Beispiel dafür liefert die von *M. Rubner* aufgefundene sogenannte sekundäre spezifisch-dynamische Eiweißwirkung. Wird ein Hund einige Zeit mit Fleisch gefüttert, so steigt sein Stoffwechsel fortwährend an und erreicht zuletzt ziemlich hohe Werte. Eine Erklärung dieses wichtigen Phänomens scheint uns durch folgende Tatsachen gegeben zu sein. Nach den Untersuchungen von *L. Asher* und seinen Mitarbeitern *D. Pletnew*[1]), *A. Tschannen*[2]), *H. Richardson*[3]), *J. Abelin* und *J. Corral*[4]) hemmen größere Mengen von Eiweißabbauprodukten die Glykogenbildung in der Leber. *P. Junkersdorff*[5]) hat nun nachgewiesen, daß beim Hunde eine reichliche Fütterung mit Fleisch die Leber so gut wie glykogenfrei macht. Diese Störung des Kohlehydratstoffwechsels scheint uns in Analogie zu den Versuchen mit Schilddrüsensubstanz, mit Tyramin, Phenyläthylamin, mit Adrenalin für die Stoffwechselerhöhung nach reichlicher Fleischzufuhr verantwortlich zu sein. Die Erscheinung der sekundären spezifisch-dynamischen Wirkung bestätigt also die Tatsache, daß es jedesmal zu einer Erhöhung der Oxydationen kommt, sobald die Blutzuckerbereitung nicht über die normale physiologische Stufe des Glykogens geht und sobald andere Wege eingeschlagen werden müssen (Umwandlung von Eiweiß in Zucker oder Übergang von Fett in Kohlehydrat). In der Tat haben *E. F. Terroine*, *S. Trautmann* und *R. Bonnet*[6]) berechnet, daß bei den Pflanzen die Entstehung von Kohlehydrat aus Eiweiß mit einem Verlust von 35 Proz. der umgesetzten Energie verknüpft ist, während der Übergang von Fett in Kohlehydrat einen Energieverlust von 23 Proz. ergibt.

Solche Steigerungen der Kalorienproduktion, die mit der Zuckerbildung aus Nichtkohlehydraten im Zusammenhang stehen, spielen sich auch physiologischerweise bei der spezifisch-dynamischen Wirkung der Nahrungsstoffe ab. Um diese Zusammenhänge weiter zu analysieren und neues Material zur Stütze dieser Ansichten zu sammeln, verfolgten wir die spezifisch-dynamische Wirkung bei mit Phlorrhizin behandelten Tieren. Wir wählten eben diese Versuchsanordnung, weil hier der Eingriff in den Kohlehydratstoffwechsel im Vordergrund steht. Unsere Versuche wurden an Ratten ausgeführt. Wir bestimmten zuerst den Grund- oder Erhaltungsumsatz der Tiere und fütterten sie dann mit einer

---

[1]) *D. Pletnew*, diese Zeitschr. **21**, 355, 1909.
[2]) *A. Tschannen*, ebendaselbst **59**, 262, 1914.
[3]) *H. Richardson*, ebendaselbst **70**, 170, 1915.
[4]) *J. Abelin* und *J. Corral*, ebendaselbst **83**, 62, 1916.
[5]) *P. Junkersdorff*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **192**, 305, 1921.
[6]) *C. Terroine*, *S. Trautmann* und *R. Bonnet*, C. r. hebdom. d. séanc. d. l'acad d. sc. **180**, 1181, 1925.

bekannten Menge rohen Fleisches. Dann wurden die Tiere mit subkutanen Injektionen von Phlorrhizin behandelt. Darauf folgte wieder die Bestimmung des Grundumsatzes und der spezifisch-dynamischen Wirkung der gleichen Fleischmenge. Bald früher, bald später trat nach den Phlorrhizininjektionen eine recht beträchtliche Erhöhung der spezifisch-dynamischen Fleischwirkung auf. Normalerweise beträgt bei der Ratte die spezifisch-dynamische Fleischwirkung 10 bis 12 Proz. Nach Phlorrhizineingabe steigt sie sehr bedeutend an und erreicht Werte von 20, 30 und 40 Proz. Die erzielten Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

	Spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches	
	vor	nach
	der Phlorrhizinbehandlung	
Tabelle I	10,4, 8,2, 7,3, 12,3, 7,5, 13,2 Proz.	11,3, 32,6, 17,5, 27, 35, 39,3 Proz.
„ II	10,2, 8 Proz.	10,3, 22, 30, 22, 22 Proz.
„ III	10 Proz.	16, 15, 23, 14,8, 19 Proz.
„ IV	18, 16 Proz.	20, 19, 19,5, 19 Proz.
„ V	13,2, 15, 7,1 8,7, 9,8 Proz.	[7,3, 5] *), 17,4, 49,8 Proz.
„ VI	9,2, 8,7 Proz.	11,3, 26,4, 16, 16,5 Proz.
„ VII	12,7, 11,4 Proz.	12,1, 36,1 Proz.
„ VIII	0, 0, 0 Proz.	[0, 0, 0]†), 6,3, 10,4, 16,0, 9,4, 22,8 Proz.
„ IX	4, 5, 5,8 Proz.	0, 0, 0]†), 20, 8, 26,8, 10 Proz.

*) Nach Injektion kleiner Phlorrhizinmengen. In den nachfolgenden Versuchen wurde die Dosis erhöht.

†) Phlorrhizin in alkoholischer Lösung. In den darauffolgenden Versuchen wurde eine Suspension von Phlorrhizin in Olivenöl eingespritzt.

Wir sind der Ansicht, daß diese Versuche im Verein mit den früheren Ergebnissen und mit den theoretischen Vorstellungen über den Verlauf der Zuckerbildung es sehr wahrscheinlich machen, daß normalerweise ein großer Teil der spezifisch-dynamischen Wirkung mit der Bereitung von Kohlehydraten im Zusammenhang steht. Unter besonderen Bedingungen, wo nicht die Zuckerbildung, sondern die Bildung von Körpereiweiß oder die Entstehung von Fett im Vordergrund steht, sind natürlich die intermediären chemischen Stoffwechselprozesse anderer Natur. In solchen Fällen muß auch die spezifisch-dynamische Wirkung andere Werte annehmen.

Was den Einfluß des Phlorrhizins auf den Grundumsatz betrifft, so ergeben unsere Versuche, wie diejenigen früherer Forscher, kein einheitliches Bild. *G. Lusk*[1]), *Mandel* und *Lusk*[2]), *Bélak*[3]) u. a. sahen

[1]) *G. Lusk*, Zeitschr. f. Biol. **42**, 31, 1901.
[2]) *Mandel* und *Lusk*, Amer. Journ. of Physiol. **10**, 47, 1903.
[3]) *Bélak*, diese Zeitschr. **44**, 213, 1912.

nach Phlorrhizinzufuhr bald Erhöhungen, bald Senkungen des Gaswechsels. Allerdings sprechen die neuen Versuche von *G. Lusk*[1]) dafür, daß Injektion von Phlorrhizin den Grundumsatz erhöhen kann. Bei Ratten fanden *P. Hári* und *Aszodi*[2]) unter Phlorrhizineinfluß eine Erniedrigung des Gaswechsels, die aber in unseren Versuchen außerordentlich selten in Erscheinung trat.

In den allermeisten Fällen war bei unseren Tieren der Grundumsatz nach wiederholten Phlorrhizininjektionen wenig verändert, nur bei einigen Ratten war eine Steigerung des Basalstoffwechsels festzustellen.

Zuletzt noch eine Bemerkung über die Nomenklatur, die bei allen Fragen ähnlicher Art nicht ohne Bedeutung ist. „Nomen est omen". Der Ausdruck „spezifisch-dynamische Wirkung" ist in der Literatur eingebürgert und es wird nicht leicht sein, ihn durch eine andere Bezeichnung zu ersetzen. Trotzdem muß dies versucht werden, wenn ein neuer Name zum Verständnis des Vorgangs beitragen kann. Die Bezeichnung „spezifisch-dynamische Wirkung" ist leider nicht sehr glücklich gewählt. *Rubner* wollte es eben vermeiden, die damals noch völlig unabgeklärte Erscheinung der spezifisch-dynamischen Wirkung irgendwie näher zu charakterisieren. Er schreibt darüber folgendes: „Um nicht zu präjudizieren, will ich ... für diese wärmemehrende Eigenschaft der Kost den Ausdruck *spezifisch-dynamische Wirkung* wählen"[3]). Wenn es nun nach 25 Jahren gelungen ist, gewisse Vorstellungen über den Vorgang zu gewinnen, so ist nichts dagegen einzuwenden, wenn an Stelle des „nichtpräjudizierenden" ein bestimmender Name tritt. Die spezifisch-dynamische Wirkung ist in allererster Linie der Ausdruck der *intermediären chemischen Stoffwechselarbeit nach der Nahrungsaufnahme*. Wir möchten sie daher als „*intermediäre chemische Nährstoffarbeit*" bezeichnen. Dieser Name scheint uns das Wesen der Erscheinung schärfer zu umschreiben als der Ausdruck „spezifisch-dynamische Wirkung".

Die Bezeichnung von *Johansson*[4]) „Assimilationsarbeit" ist unserer Ansicht nach insofern nicht ganz geeignet, als es sich bei der spezifisch-dynamischen Wirkung nicht nur um Assimilations-, sondern auch um Dissimilationsprozesse handelt. Die Assimilation ist das Endergbnis des Vorgangs und *auf dem Wege* zu diesem Endziel entsteht die vermehrte Wärmebildung. Diese Tatsache scheint uns in der Formulierung

[1]) *G. Lusk*, Journ. of biol. Chem. **20**, 598, 1915.
[2]) *P. Hári* und *Aszodi*, diese Zeitschr. **87**, 176, 1918.
[3]) *M. Rubner*, l. c., S. 82.
[4]) *J. E. Johansson*, l. c., S. 743.

„intermediäre chemische Nährstoffarbeit" deutlicher zum Ausdruck zu kommen.

Eine Verständigung über die Nomenklatur wäre sehr zu begrüßen, denn in letzter Zeit werden auch rein pharmakologische Stoffwechselerhöhungen als spezifisch-dynamische Wirkung bezeichnet, was die klare Erfassung des Begriffs noch mehr erschwert.

Experimenteller Teil.

Sämtliche Versuche wurden an Ratten ausgeführt. Es wurde zuerst der Erhaltungs- oder Ruheumsatz bestimmt, dann begann die Verfütterung von Fleisch und die Ermittlung der spezifisch-dynamischen Wirkung. Das Fleisch wurde von den Tieren gewöhnlich innerhalb ½ bis 1½ Stunden gefressen. Tiere, welche sich an die Fleischaufnahme nicht gewöhnen ließen, wurden von den Versuchen ausgeschaltet. Nach Feststellung der normalen spezifisch-dynamischen Fleischwirkung begann die Injektion von Phlorrhizin. Es wurde ausschließlich subkutan eingespritzt, wobei das Phlorrhizin in Olivenöl suspendiert wurde. Die Auflösung des Phlorrhizins in verdünntem Alkohol hat sich nicht bewährt. Zwar kann man auf diese Weise das Phlorrhizin in gelöster Form einverleiben, doch entstehen dabei leicht Hautnekrosen, und die Wirkung des Phlorrhizins ist bei dieser Applikationsart schwächer als bei Eingabe in Ölsuspension (vgl. Versuche 1708 bis 1713, 1732 bis 1735). Ratten erweisen sich ziemlich widerstandsfähig gegenüber Phlorrhizin. Es wurden zuerst Mengen von 25 bis 75 mg Phlorrhizin pro die für etwa 200 g schwere Tiere verwendet. Diese Dosen sind zu gering, obwohl sie zur Glykosurie führen. In den späteren Versuchen wurden 150 bis 200 mg Phlorrhizin gebraucht, in einzelnen Fällen kamen 300 mg zur Anwendung. Der Einfluß des Phlorrhizins auf die spezifisch-dynamische Fleischwirkung zeigt sich nicht unmittelbar nach Beginn der Einverleibung, sondern erst beträchtlich später. Es müssen wahrscheinlich die Organvorräte an Glykogen ziemlich erschöpft sein, bevor die erhöhte spezifisch-dynamische Fleischwirkung zum Ausdruck kommt. Ist nun dieses Stadium erreicht, so steigt die spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches um das Zwei-, Drei- bis Vierfache des normalen Wertes. Nach dem Aussetzen der Phlorrhizindarreichung kehrt die spezifisch-dynamische Fleischwirkung ziemlich bald zum ursprünglichen Wert zurück. Nicht selten findet man in dieser Nachperiode eine Senkung der spezifisch-dynamischen Wirkung und des Grundumsatzes.

Die Phlorrhizinbehandlung wird von den Tieren gut ertragen, wenigstens sind uns so gut wie keine Tiere daran zugrunde gegangen. Nur muß man für reichliche Wasserzufuhr sorgen, da die Tiere kurz nach Beginn der Phlorrhizininjektion einen ziemlich starken Durst bekommen.

Unter dem Einfluß des Phlorrhizins werden die Tiere häufig empfindlicher gegenüber einer Erhöhung der Außentemperatur. Die erhöhte spezifisch-dynamische Fleischwirkung ist mit einer vermehrten Wärmeabgabe verknüpft. Bei der kritischen Temperatur der Versuchstiere, d. h. bei einer Außentemperatur von 28°, ist eine vermehrte Wärmeabgabe erschwert, kommt leicht zum Schweißausbruch. Analoges findet man auch in anderen Fällen, z. B. nach Schilddrüsenfütterung.

Tabelle I. Ratte

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Behandlung. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R.Q.
1578	22. IV.	Nüchtern	0,44	2,40	2,33	
1579	25. IV.	Nüchtern	0,78	1,33	1,25	0,742
1580	29. IV.	6 g gekochtes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,24	2,57	2,40	0,773
1581	4. V.	7 g rohes Rindfleisch, 1h10′ „ „ „	0,86	2,40	2,28	0,778
1582	7. V.	7 g „ „ 50′ „ „ „	1,35	2,40	2,24	0,765
1583	12. V.	Nüchtern	1,43	2,62	2,40	0,778
1584	14. V.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	0,90	3,55	2,94	0,793
1585	16. V.	9 g „ „ 50′ „ „ „	1,22	2,71	2,55	0,877
1586	22. V.	Nüchtern	0,70	1,44	1,38	0,772
1587	26. V.	10 g rohes Rindfleisch, 1h10′ nach der Aufnahme	1,32	3,08	2,96	0,758
1588	28. V.	Nüchtern	0,58	1,52	1,43	0,756
1589	28. V.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,66	3,16	3,01	0,772
1590	2. VI.	Nüchtern	0,65	1,39	1,30	0,763
1591	2. VI.	5 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	0,75	2,02	1,86	0,777
1592	2. VI.	10 g „ „ 1h „ „ „	1,34	3,19	2,87	0,789
	8. VI.	0,05 g Phlorrhizin injiziert.				0,807
	9. VI.	Nüchtern	1,33	2,79	2,80	
	9. VI.	0,025 g Phlorrhizin injiziert.				0,724
	10. VI.					
1593	11. VI.	Nüchtern	0,74	1,13	1,08	
1594	11. VI.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,13	2,80	2,43	0,760
	12. VI.	0,050 g Phlorrhizin injiziert.				0,837
1595	13. VI.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	2,00	3,08	2,90	
	15. VI.	0,03 g Phlorrhizin injiziert.				0,772
	16. VI.					
	20. VI.	0,03 g „ „				
1596	22. VI.	Nüchtern	0,47	1,32	1,20	
1597	22. VI.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,64	3,17	2,89	0,799
	23. VI.	0,075 Phlorrhizin injiziert.				0,797
	24. VI.					
1598	25. VI.	Nüchtern	1,13	1,96	1,89	
1599	27. VI.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,11	3,27	2,99	0,753
	30. VI.	0,1 g Phlorrhizin injiziert.				0,794
	1. VII.					
1600	2. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,49	3,18	3,25	
	3. VII.	0,075 g Phlorrhizin injiziert.				0,711
1601	4. VII.	Nüchtern	1,52	2,32	2,27	
	6. VII.	0,075 g Phlorrhizin injiziert.				0,742
	7. VII.	0,1 g „ „				
1602	8. VII.	1 g rohes Rindfleisch, 1h20′ nach der Aufnahme	1,25	3,11	3,03	
1603	11. VII.	Nüchtern	0,78	1,31	1,21	0,746
						0,786

eiß, Männchen.

R.-Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbild.	Spez.-dyn. Wirkung d. Kalorienbildung	Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
	pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden			Proz.	g	Stdn.	°C
,742	1,80	1,76	6,07	nüchtern Mittelwert				266,94	5	28—29
,773	1,76	1,65	5,60	1,78	1,71	5,84		252,27	3	28—30
,778	2,03	1,90	6,45				10,45	253,13	5	28—30
,765	1,88	1,78	6,05				8,23	256,05	5	28—30
,778	1,89	1,77	6,00				7,31	253,76	5	28—30
,793	1,79	1,64	5,59					243,33	6	28—30
,877	2,19	1,81	6,28				12,34	269,81	6	28—30
,772	1,89	1,78	6,03					261,02	5,5	28—30
,758	1,86	1,78	6,03					258,54	3	29
,756	1,91	1,83	6,20					268,85	6	28—30
,772	1,97	1,85	6,28					257,55	3	29—30
,763	2,01	1,91	6,47					262,42	6	29—31
,777	1,77	1,65	5,62					262,17	3	29—30
,789	1,92	1,77	6,04				7,47	262,43	4	29—30
,807	2,09	1,88	6,41				13,25	254,70	6	28—30
,724	1,68	1,68	5,66					237,63	7	28—31
,760	1,61	1,54	5,22					233,45	3	28—30
,837	1,95	1,69	5,81				11,30	239,37	6	29—30
,772	2,16	2,04	6,92				32,57	258,71	5,5	29—30
,799	1,78	1,62	5,53					246,63	3	28—29
,797	2,09	1,91	6,50				17,54	252,52	6	28—29
,753	1,69	1,63	5,51					231,72	5	28—30
,794	2,25	2,05	7,00				27,04	242,42	6	29—30
,711	2,17	2,22	7,43				34,85	243,86	6	29—30
,742	1,63	1,60	5,39					236,37	6	29—30
,746	2,28	2,22	7,51				39,33	226,97	6	29—30
,786	1,89	1,75	5,96					230,49	3	28—29

Tabelle II. Ratte,

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Behandlung. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g
1604	4. VIII.	Nüchtern	1,04	1,98	1,89
1605	7. VIII.	Nüchtern	1,27	1,85	1,80
1606	10. VIII.	Nüchtern	1,93	2,41	2,34
1607	12. VIII.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 20′ n. d. Aufnahme .	1,26	2,60	2,41
1608	24. VIII.	9 g „ „ 1h 30′ n. d. „ .	1,34	2,28	2,21
1609	26. VIII.	Nüchtern	1,22	2,01	1,96
	30. VIII.	75 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1610	31. VIII.	Nüchtern	1,08	2,05	2,08
	1. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1611	2. IX.	Nüchtern	0,84	2,21	2,22
	4. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1612	5. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 20′ nach d. Aufnahme	1,30	2,73	2,75
	6. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1613	7. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 15′ nach d. Aufnahme	1,44	2,85	2,88
	8. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1614	9. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme .	1,55	3,00	2,98
	10. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1615	11. IX.	9 g rohes Rindfleisch, 1h 30′ nach d. Aufnahme	1,33	2,90	2,87
	13. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1616	14. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 15′ nach d. Aufnahme	0,95	2,86	2,80

Tabelle III. Ratte,

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Behandlung. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g
1617	4. VIII.	Nüchtern.	0,93	2,29	2,13
1618	7. VIII.	Nüchtern.	0,97	1,95	1,92
1619	10. VIII.	Nüchtern.	1,32	2,54	2,49
1620	12. VIII.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 30′	0,86	2,73	2,57
1621	24. VIII.	8 g „ „ 1h 20′ nach d. Aufnahme	0,96	2,35	2,25
1622	26. VIII.	Nüchtern.	0,76	2,15	2,04
	31. VIII.	75 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1623	31. VIII.	Nüchtern.	1,09	2,13	2,19
	1. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1624	2. IX.	Nüchtern.	1,17	2,23	2,24
	4. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1625	5. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,61	2,95	2,98
	6. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1626	7. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 25′	1,56	2,92	2,87
	8. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1627	9. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 20′	1,71	3,16	3,15
	10. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1628	11. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	0,81	2,96	2,92
	13. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1629	14. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,95	3,16	2,98

Rücken blau, Männchen.

R.-Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kastens °C
	pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden						
0,761	1,58	1,50	5,10					251,18	5	27—28
0,747	1,49	1,45	4,90					248,47	5	27—28
0,748	1,55	1,50	5,09					258,92	6	28—29
0,784	1,78	1,65	5,61				10,2	265,28	5,5	28—29
0,749	1,65	1,60	5,40				8,0	276,78	5	28—29
0,745	1,48	1,44	4,88			4,99		271,49	5	28—29
0,716	1,49	1,52	5,10					274,40	5	28—29
0,723	1,75	1,76	5,90			5,50		252,94	5	28—29
0,721	1,83	1,84	6,19				10,3	248,58	6	26—28
0,719	1,98	2,00	6,72				22	238,99	6	28—29
0,731	2,12	2,11	7,10				30	235,15	6	26—28
0,734	2,05	2,02	6,82				22	236,02	6	27—28
0,742	2,05	2,01	6,77				22	232,49	6	27—28

Kopf blau, Männchen.

R.Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kastens °C
	pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden						
781	1,68	1,56	5,32					272,22	5	28—29
738	1,47	1,45	4,88					265,71	5	26—28
741	1,53	1,50	5,05					276,85	6	28—29
772	1,73	1,63	5,54				10	286,11	5,5	27—29
739	1,58	1,52	5,14					296,71	5	28—29
766	1,47	1,40	4,74			5,0		291,84	5	28—29
707	1,48	1,52	5,10					287,48	5	27—28
723	1,60	1,60	5,39			5,25		279,29	5	27—28
719	1,80	1,82	6,11				16	273,12	6	26—28
739	1,82	1,79	6,03				15	267,27	6	27—28
729	1,95	1,95	6,55				23	269,53	6	26—28
726	1,81	1,78	6,01				14,8	272,44	6	26—27
730	1,96	1,85	6,26				19	268,76	6	28—29

Tabelle IV. Ratte, Beinchen

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Präparat Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g
	22. VII.	Nüchtern	1,93	2,11	2,01
1630	7. VIII.	Nüchtern	1,14	1,91	1,82
1631	10. VIII.	Nüchtern	1,25	2,56	2,38
1632	12. VIII.	9 g rohes Rindfleisch, 1h 30′ nach der Aufnahme	1,21	2,75	2,60
1633	24. VIII.	10 g „ „ 1h „ „ „	1,71	3,09	2,95
1634	26. VIII.	Nüchtern	0,62	2,14	2,01
	30. VIII.	75 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1635	31. VIII.	Nüchtern	0,98	2,38	2,34
	1. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1636	2. IX.	Nüchtern	0,86	2,28	2,31
	4. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1637	5. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach d. Aufnahme	0,97	2,74	2,81
	6. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1638	7. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 25′	1,30	3,09	3,07
	8. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1639	9. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h 20′ nach d. Aufn.	1,20	3,00	3,01
	10. IX.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1640	11. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h	1,92	2,95	2,97
	13. IX.	100 g Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1641	14. IX.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach d. Aufnahme	1,36	3,01	3,[illegible]

Versuchsserie I.

Die spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches vor der Phlorrhizinbehandlung schwankte bei diesem Tiere zwischen 7 und 13 Proz., lag also durchaus im normalen Bereich. Am 8. Juni begannen die Phlorrhizininjektionen, und bereits am 13. Juni treffen wir eine spezifisch-dynamische Fleischwirkung von 32,57 Proz., die während der Normalperiode vom April bis Juni niemals zur Beobachtung kam. Es handelt sich hier allerdings um ein Tier, welches auf die Phlorrhizindarreichung ziemlich stark reagierte. In den nachfolgenden Versuchen betrug die spezifisch-dynamische Fleischwirkung 17, 27, 35 und 39 Proz., also durchweg höhere als in den Normalversuchen. Der Ruheumsatz dieses Tieres wurde durch das Phlorrhizin wenig beeinflußt, bei manchen anderen Tieren erhöhte das Phlorrhizin deutlich den Gaswechsel. Die Körpergewichtsabnahme betrug etwa 10 Proz.

Versuchsserien II, III und IV.

Bei dem Tiere der Versuchsserie II kamen etwas größere Phlorrhizinmengen zur Anwendung, die Versuchsdauer betrug etwa 1½ Monate. Die ersten Injektionen von Phlorrhizin brachten keine Veränderung der spezifisch-dynamischen Fleischwirkung, diese bleibt am 5. September nach dreimaliger Phlorrhizineingabe auf der gleichen Höhe wie in den Normalversuchen und beträgt 10 Proz. Dann steigt sie aber auf 22 und 30 Proz., also auf den doppelten bis dreifachen Betrag des normalen Wertes. Parallel der Phlorrhizinwirkung verläuft die Abnahme des Körpergewichts, die gegen Ende des Versuchs besonders deutlich ist.

blau, Männchen.

O_2-Verbrauch g	R.-Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kastens °C
		pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden						
2,01	0,763	1,62	1,55	5,24					260,0	5	29—30
1,82	0,762	1,55	1,47	4,99					247,03	5	27—29
2,38	0,781	1,60	1,48	5,05					266,93	6	28—29
2,60	0,768	1,84	1,74	5,91				18	871,38	5,5	28—29
2,95	0,761	1,79	1,71	5,78				16	287,85	6	28—29
2,01	0,773	1,51	1,42	4,81			5,00		283,78	5	28—29
2,34	0,739	1,73	1,70	5,72					275,89	5	28—29
2,31	0,717	1,73	1,75	5,89			5,8		263,67	5	27—28
2,81	0,708	1,75	1,79	6,01					260,83	6	26—27
3,07	0,731	2,09	2,07	6,98				20	246,53	6	28—29
3,01	0,724	2,04	2,04	6,86				19	245,41	6	27—28
2,9	0,726	2,06	2,06	6,92				19,5	238,98	6	27—28
3,	0,729	2,05	2,05	6,89				19	244,09	6	27—28

Bei der Versuchsserie III handelt es sich um einen gleichzeitig ausgeführten Parallelversuch, der im allgemeinen das gleiche Bild ergibt wie die Serie II. Die spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches ist nach der Phlorrhizindarreichung deutlich höher als vor derselben. Der Grundumsatz hat bei diesen beiden Tieren durch das Phlorrhizin keine in Betracht fallenden Veränderungen erlitten. Dagegen handelt es sich bei der Versuchsserie IV um ein Tier, welches auf die Phlorrhizinzufuhr mit einer Erhöhung des Grundumsatzes reagierte. Dieselbe betrug rund 16 Proz. Auch die spezifisch-dynamische Fleischwirkung war bei diesem Tiere in der Normalperiode höher als bei den anderen Tieren. Dementsprechend hat hier die Phlorrhizineingabe so gut wie keine Veränderung mit sich gebracht, trotzdem wir in der Phlorrhizinperiode nach Fleischzufuhr eine Kalorienbildung von 6,8 und 6,9 gegenüber 5,8 und 5,9 in der Normalperiode finden. Dieses Tier ist das einzige, bei welchem die Phlorrhizininjektion keine Veränderung der spezifisch-dynamischen Fleischwirkung erzeugte.

Versuchsserie V.

Hier wurde in einer größeren Reihe von Versuchen die spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches vor Beginn der Phlorrhizininjektionen bestimmt. Als Durchschnitt ergab sich eine Erhöhung der Kalorienproduktion von 10,8 Proz. Darauf wurde an einzelnen Tagen Phlorrhizin einverleibt. Kleinere Dosen wie 25 bis 30 mg erweisen sich wirkungslos und die spezifisch-dynamische Wirkung fällt am 11. und am 13. Juni noch niedriger als während der Normalperiode aus. Nach wiederholter Einspritzung von 75 bis 100 mg Phlorrhizin pro dosi steigt die spezifisch-dynamische

Tabelle V. Ratte,

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Behandlung. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g
			1,06	1,82	1,77
1642	22. IV.	Nüchtern	0,70	1,04	0,98
1643	25. IV.	Nüchtern	1,24	2,01	1,84
1644	7. V.	7 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme	1,26	1,97	1,86
1645	12. V.	Nüchtern	0,97	1,96	1,65
1646	14. V.	7 g rohes Fleisch, 1h nach Aufnahme	1,56	2,38	2,11
1647	16. V.	10 g „ „ , 1h „ „	0,71	1,06	1,01
1648	22. V.	Nüchtern	2,12	2,30	2,03
1649	22. V.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme	1,64	2,40	2,16
1650	26. V.	10 g „ „ , 1h „ „	0,67	1,21	1,08
1651	28. V.	Nüchtern	0,94	2,16	1,99
1652	28. V.	7 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme	0,73	1,07	0,99
1653	2. VI.	Nüchtern	0,75	0,98	0,94
1654	4. VI.	Nüchtern	1,48	1,91	1,74
1655	4. VI.	6,5 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme			
	8. VI.	50 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert			
	9. VI.	25 mg „ „ „ „ „			
	10. VI.	25 mg „ „ „ „ „	2,00	2,45	2,47
1656	9. VI.	Nüchtern	0,52	1,18	1,14
1657	11. VI.	Nüchtern	1,41	2,58	2,49
1658	11. VI.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme			
	12. VI.	50 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.	0,94	2,26	2,26
1659	13. VI.	7 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme			
	15. VI.	30 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert			
	16. VI.	30 mg „ „ „ „ „			
	20. VI.	30 mg „ „ „ „ „	0,52	1,18	1,13
1170	22. VI.	Nüchtern			
	23. VI.	75 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert			
	24. VI.	75 mg „ „ „ „ „	1,14	1,82	1,8
1671	25. VI.	Nüchtern			
	30. VI.	100 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
	1. VII.	100 mg „ „ „	1,74	2,68	2,6
1672	2. VII.	10 g Rindfleisch, 1h nach Aufnahme			
	3. VII.	75 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.	1,75	1,99	1,9
1673	4. VII.	Nüchtern			
	6. VII.	75 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
	7. VII.	75 mg „ „ „	1,37	2,77	2,7
1674	8. VII.	10 g rohes Fleisch, 1h 20′ nach Aufnahme	0,88	2,29	2,2
1675	17. VII.	8 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme	1,32	2,06	2,0
1676	21. VII.	Nüchtern			

Weibchen.

R.Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung	Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
	pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden			Proz.	g	Stdn.	°C
0,747	1,70	1,65	5,57					215	5	27—28
0,771	1,67	1,57	5,33					208	3	28—29
0,794	1,89	1,73	5,90				13,2	213	5	28—29
0,769	1,60	1,51	5,14					204,5	6	28—29
0,863	1,78	1,50	5,18					219,7	5	28—29
0,819	1,97	1,75	5,99				15,0	219	5,5	28—29
0,762	1,66	1,58	5,34					213	3	28
0,823	1,89	1,67	5,72				7,1	220,8	5,5	28—29
0,807	1,78	1,60	5,46					225	6	27—29
0,814	1,85	1,65	5,64					217,7	3	28
0,788	1,95	1,80	6,13				8,69	221	5	27—28
0,785	1,74	1,61	5,43					204,5	3	27—29
0,757	1,63	1,56	5,30					200,4	3	28—29
0,797	1,87	1,71	5,82				9,80	203,8	5	27—28
						Durchschnitt	10,80			
0,721	1,74	1,75	5,89					201	7	28—30
0,752	1,89	1,83	6,18					207,9	3	28—29
0,753	2,03	1,96	6,63				7,28	211,5	6	28—29
0,726	1,93	1,93	6,50				5,00	213	5,5	28—29
0,759	1,78	1,70	5,76					221,5	3	26—28
0,735	1,71	1,69	5,70					213,0	5	27—30
0,732	2,00	1,99	6,69				17,4	223	6	28—29
0,730	1,50	1,49	5,02					221,3	6	28—29
0,740	2,27	2,23	7,51				49,8	203,5	6	28—29
0,785	1,77	1,64	5,59					234,7	5,5	27—29
0,748	1,46	1,42	4,80					234,4	6	28—29

Tabelle VI. Ratte, weib

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Behandlung. Beginn des Versuchs	H_2O_2-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g	R.-Q.
1677	2. VI.	Nüchtern*)	0,83	1,00	0,93	1,781
1678	2. VI.	9,5 g rohes Fleisch, 1h nach Aufnahme	1,34	2,30	2,09	1,799
1679	4. VI.	Nüchtern	0,65	0,95	0,91	1,758
1680	4. VI.	6,5 g rohes Fleisch, 1h nach Aufnahme	0,87	1,40	1,33	1,765
	8. VI.	50 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert.				
1681	9. VI.	Nüchtern	2,35	2,21	2,21	1,726
	9. VI.	25 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert.				
	10. VI.	25 mg „ „ „ „ „				
1682	11. VI.	Nüchtern	0,81	1,01	1,03	1,712
1683	11. VI.	10 g rohes Fleisch, 1h nach Aufnahme	1,42	2,43	2,38	1,742
	12. VI.	50 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.				
1684	13. VI.	7 g rohes Fleisch, 1h nach Aufnahme	1,01	2,22	2,25	1,717
	15. VI.	30 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert.				
	16. VI.	30 mg „ „ „ „ „				
	20. VI.	30 mg „ „ „ „ „				
	23. VI.	75 mg „ „ „ „ „				
	30. VI.	100 mg „ „ „ „ „				
	1. VII.	100 mg „ „ „ „ „				
1685	2. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 1h15′ nach Aufnahme	2,33	2,50	2,43	1,747
1686	3. VII.	Nüchtern	1,49	2,10	2,10	1,726
	3. VII.	75 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert.				
	6. VII.	75 mg „ „ „ „ „				
	7. VII.	100 mg „ „ „ „ „				
1686	8. VII.	10 g rohes Fleisch, 1h15′ nach Aufnahme	1,25	2,40	2,33	1,748
1687	11. VII.	Nüchtern	0,54	1,09	1,01	1,784
1688	14. VII.	7 g rohes Fleisch, 1h30′ nach Aufnahme	1,41	2,23	2,11	1,768
1689	17. VII.	10 g „ „ 1h30′ „ „	1,71	2,37	2,23	1,772
1690	21. VII.	Nüchtern	1,46	1,86	1,76	1,768

Tabelle VII. Ratte, ♂, M

1691	11. II.	Nüchtern	0,88	2,60	2,51	1,752
1692	14. II.	Nüchtern	0,69	1,68	1,61	1,758
1693	24. II.	8 g rohes Rindfleisch, 1h15′ nach Aufnahme	1,87	3,69	3,43	1,782
1694	26. II.	8 g „ „ 1h „ „	1,40	3,64	3,43	1,789
1695	28. II.	Nüchtern	1,09	2,58	2,39	1,784
	2. III.	40 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.				
	3. III.	20 mg „ „ „				
1696	4. III.	Nüchtern	1,05	1,66	1,63	1,740
	6. III.	40 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.				
1697	7. III.	Nüchtern	1,29	2,51	2,42	1,753
	9. III.	50 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.				
1698	11. III.	Nüchtern	1,25	1,81	1,67	1,797
1699	11. III.	8 g Rindfleisch, 1h30′ nach Aufnahme	1,48	2,83	2,59	1,794
	12. III.	20 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.				
	14. III.	50 mg „ „ „				
1700	16. III.	3 g Traubenzucker, 30′ nach Aufnahme	1,48	2,93	2,23	1,946
	19. III.	50 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.				
1701	20. III.	8 g Rindfleisch, 1h nach Aufnahme	1,57	3,24	3,17	1,757

*) Mittelwert der Normalperiode.

Ratte, Weibchen.

O_2-Verbrauch g	R.Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbild.	Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
		pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden			Proz.	g	Stdn.	°C
0,93	781	1,85	1,72	5,85					180,3	3	28—29
2,09	799	2,06	1,87	6,39				9,23	186	6	27—28
0,91	758	1,84	1,77	5,98	1,84	1,75	5,92		171,8	3	27—28
1,33	765	2,02	1,92	6,50	2,04	1,90	6,45	8,70	173,6	4	28—29
2,21	726	1,85	1,85	6,23					170,5	7	28—30
1,03	712	1,94	1,97	6,62					174	3	28—29
2,38	742	2,23	2,18	7,37				11,3	181,4	6	28—29
2,25	717	2,46	2,49	8,37				26,4	180,8	5	28—30
2,43	747	2,24	2,18	7,36				16,0	185,8	6	28—29
2,10	726	1,89	1,89	6,36					185	6	28—29
2,33	748	2,26	2,19	7,41				16,5	177	6	28—29
1,01	784	1,94	1,80	6,12					187	3	27
2,11	768	2,10	1,99	6,74				10,0	193	5,5	26—28
2,23	772	1,98	1,87	6,34				3,8	199	6	28—29
1,76	768	1,55	1,46	4,98					199,5	6	29—30

Ratte, Männchen.

2,51	752	1,69	1,63	5,51					308	5	28—29
1,61	758	1,85	1,77	5,99					303	3	27
3,43	782	1,99	1,85	6,30				12,7	308,4	6	27—28
3,43	789	1,94	1,83	6,23				11,4	312	6	27—28
2,39	784	1,68	1,55	5,28	1,74	1,65	5,59		307,6	5	27
1,63	740	1,85	1,82	6,13					299	3	28—29
2,42	753	1,61	1,56	5,26					282,8	5,5	27—28
1,63	797	1,69	1,54	5,26					305,8	3,5	27—28
2,59	794	2,05	1,88	6,40				12,1	306,4	4,5	27—28
2,29	746	2,08	1,60	5,61					281,4	5	27—28
3,13	757	2,39	2,29	7,77				36,1	284,3	6	28—29

Tabelle VIII. Ratte,

Nr. des Versuchs	Datum 1925	Art der Behandlung. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g
1702	29. VI.	Nüchtern	0,79	2,57	2,57
1703	1. VII.	„	0,79	2,75	2,75
1704	6. VII.	„	1,33	2,90	2,85
1705	29. VI.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme	0,89	2,60	2,58
1706	1. VII.	10 g „ „ 1h „ „	0,92	2,82	2,79
1707	7. VII.	10 g „ „ 1h „ „	1,25	3,01	2,92
	10. VII.	100 mg Phlorrhizin, gelöst in 0,5 cm 90 proz. Alkohol + 1,5 ccm Wasser, subkutan injiziert.			
1708	10. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 30′ nach Aufnahme	1,32	2,90	2,84
	11. VII.	100 mg Phlorrhizin in Alkohol subkut. injiziert.			
	12. VII.	100 mg „ „ „ „ „			
	13. VII.	100 mg „ „ „ „ „			
1709	13. VII.	Nüchtern	0,71	1,81	1,75
1710	13. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 30′ nach Aufnahme	1,15	3,00	2,89
1711	14. VII.	100 mg Phlorrhizin in Alkohol, subkutan injiziert.			
1712	15. VII.	Nüchtern	0,48	1,58	1,50
1713	15. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach der Aufnahme	1,47	3,33	3,00
	16. VII.	100 mg Phlorrhizin in Alkohol subkut. injiziert.			
	17. VII.	150 mg „ „ „ „ „			
	18. VII.	150 mg „ „ „ „ „			
1714	19. VII.	Nüchtern	0,85	1,65	1,60
1715	19. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 45′ nach der Aufnahme	2,34	3,34	3,05
	20. VII.	180 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert.			
	21. VII.	200 mg „ „ „ „ „			
1716	22. VII.	Nüchtern	1,04	1,36	1,41
1717	22. VII	10 g Rindfleisch, 30′ nach der Aufnahme	1,46	3,25	3,28
	23. VII.	200 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkutan injiziert.			
1718	24. VII.	Nüchtern	0,76	1,17	1,22
1719	24. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 45′ nach der Aufnahme	2,57	3,72	3,77
	25. VII.	200 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkut. injiziert.			
1720	26. VII.	Nüchtern	0,90	1,33	1,33
1721	26. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 45′ nach der Aufnahme	2,35	2,85	2,85
	27. VII.	200 mg Phlorrhizin in Olivenöl subkut. injiziert.			
1722	28. VII.	Nüchtern	0,86	1,45	1,42
1723	28. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 30′ nach der Aufnahme	2,00	2,88	2,80
	29. VII.	300 mg Phlorrhizin subkutan injiziert.			
1724	30. VII.	Nüchtern	0,84	1,27	1,25
1725	30. VII.	10 g Rindfleisch, 30′ nach der Aufnahme	2,30	3,13	3,10

weiß, Männchen.

R.-Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbildung Proz.	Gewicht der Ratte g	Dauer des Versuchs Stdn.	Temperatur des Kastens °C
	pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden						
0,726	1,86	1,86	6,25					277	5	21—22
0,726	1,94	1,94	6,54					283	5	22
0,739	1,99	1,96	6,61					291	5	23
0,736	1,89	1,86	6,27				0	278	5	23
0,738	1,96	1,95	6,55				0	282	5	22—23
0,742	2,05	1,98	6,70				0	290	5	22—23
0,742	2,04	2,00	6,74				0	284	5	22
0,751	2,10	2,03	6,87					287	3	22—23
0,754	2,07	1,99	6,74				0	290	5	22—23
0,765	2,28	2,17	7,35					277	2,5	22—23
0,806	2,42	2,18	7,44				0	275	5	23
0,749	2,36	2,28	7,73					280	2,5	25—26
0,795	2,36	2,15	7,34				6,3	283	5	25—26
0,700	2,05	2,12	7,10					266	2,5	23
0,720	2,31	2,33	7,84				10,4	268	5,25	24—25
0,697	2,20	2,29	7,68					266	2	23—24
0,716	2,33	2,36	7,96					265	6	23—24
0,726	1,96	1,96	6,61					271	2,5	23—24
0,726	2,33	2,33	7,87				16,0	271	4,5	23—24
0,742	2,20	2,15	7,26					264	2,5	22
0,747	2,41	2,35	7,94				9,4	265	4,5	22
0,738	2,03	2,00	6,75					250	2,5	25
0,733	2,48	2,46	8,29				22,8	252	5	25

Tabelle IX. Ra

Nr. des Versuchs	Datum 1926	Art der Behandlung. Beginn des Versuchs	H_2O-Bildung g	CO_2-Bildung g	O_2-Verbrauch g
1726	5. VII.	Nüchtern	1,23	2,55	2,4
1727	6. VII.	„	0,90	2,75	2,7
1728	8. VII.	„	2,52	4,19	4,1
1729	5. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme . .	1,08	2,65	2,5
1730	6. VII.	10 g „ „ 1h „ „ . .	1,00	2,89	2,8
1731	8. VII.	10 g „ „ 1h „ „ . .	1,98	4,43	4,3
	10. VII.	75 mg Phlorrhizin gelöst in 0,5 ccm 90proz. Alkohol + 1,5 ccm H_2O, subkutan injiziert.			
1732	10. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 30′ nach Aufnahme . .	1,77	2,89	2,8
	11. VII.	100 mg Phlorrhizin in Alkohol gelöst, subkt. inj.			
	12. VII.	100 mg „ „ „ „ „ „			
	13. VII.	50 mg „ „ „ „ „ „			
	14. VII.	100 mg „ „ „ „ „ „			
1733	15. VII.	Nüchtern	0,74	1,44	1,3
1734	15. VII.	10 g rohes Rindfleisch, 2h nach Aufnahme . .	0,97	1,74	1,6
	16. VII.	100 mg Phlorrhizin in Alkohol, subkt. injiziert			
	17. VII.	150 mg „ „ „ „ „			
	18. VII.	150 mg „ „ „ „ „			
1735	19. VII.	Nüchtern	0,90	1,26	1,2
1736	19. VII.	7 g rohes Rindfleisch, 1h nach Aufnahme . .	1,96	2,12	2,0
	20. VII.	180 mg Phlorrhizin in Olivenöl, subkt. injiziert			
	21. VII.	200 mg „ „ „ „ „			
1737	22. VII.	Nüchtern	0,63	1,19	1,2
1738	22. VII.	8,5 g rohes Rindfleisch, 30′ nach Aufnahme .	2,10	2,64	2,6
	23. VII.	200 mg Phlorrhizin in Olivenöl, subkt. injiziert			
	25. VII.	200 mg „ „ „ „ „			
1739	26. VII.	Nüchtern	0,70	1,22	1,2
1740	26. VII.	10 g Rindfleisch, 45′ nach Aufnahme	1,65	2,52	2,4
	27. VII.	200 mg Phlorrhizin in Olivenöl, subkt. injiziert			
1741	28. VII.	Nüchtern	0,68	1,20	1,2
1742	28. VII.	8 g rohes Rindfleisch, 30′ nach Aufnahme . .	1,04	2,34	2,3
	29. VII.	300 mg Phlorrhizin in Olivenöl, subkt. injiziert			
1743	30. VII.	Nüchtern	0,76	1,17	1,1
1744	30. VII.	9 g rohes Rindfleisch, 30′ nach Aufnahme . .	1,71	2,92	2,8

IX. Rat[illegible]au, Männchen.

CO_2-bildung g	O_2-Verbrauch g	R.-Q.	CO_2 g	O_2 g	Kalorienbildung	CO_2	O_2	Kalorienbildung	Spezifisch-dynamische Wirkung der Kalorienbild.	Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
			pro kg und Stunde			pro kg und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden			Proz.	g	Stdn.	°C
2,55	2,4[illegible]	0,744	2,15	2,10	7,09					237	5	23
2,75	2,7[illegible]	0,734	2,12	2,10	7,07					259	5	23
4,19	4,1[illegible]	0,742	2,32	2,27	7,65	2,20	2,16	7,30		258	7	23
2,65	2,5[illegible]	0,745	2,21	2,20	7,38				4,0	237	5	23
2,89	2,8[illegible]	0,736	2,25	2,23	7,40				5,0	258,5	5	23—24
4,43	4,3[illegible]	0,746	2,48	2,43	8,10				5,8	257	7	23
2,89	2,8[illegible]	0,737	2,27	2,23	7,49					255	5	22—23
,44	1,3[illegible]	0,758	2,40	2,30	7,79					240	2,5	22—23
,74	1,6[illegible]	0,761	2,39	2,28	7,74				0	242	3	23
,26	1,2[illegible]	0,726	2,14	2,14	7,20					236	2,5	25
,12	2,0[illegible]	0,740	2,22	2,18	7,37				0	238	4	25—26
,19	1,2[illegible]	0,709	2,07	2,13	7,12					229	2,5	22—23
,64	2,6[illegible]	0,726	2,54	2,54	8,54				20,0	231	4,5	23—24
22	1,2[illegible]	0,720	2,09	2,11	7,09					233	2,5	23—24
52	2,4[illegible]	0,753	2,38	2,30	7,77				8,0	235	4,5	23—24
20	1,2[illegible]	0,710	2,08	2,12	7,10					233	2,5	22—23
34	2,3[illegible]	0,726	2,67	2,67	9,00				26,8	234	4	22—23
17	1,17	0,726	2,21	2,21	7,45					235	2,25	25
92	2,87	0,739	2,47	2,43	8,20				10,0	236	5	25

Fleischwirkung an und erreicht am 2. Juli den Wert von 17,4 Proz. und am 8. Juli den sehr hohen Wert von 49,8 Proz. Der Grundumsatz wurde durch das Phlorrhizin wenig beeinflußt. Nach Aufhören der Phlorrhizindarreichung kehrten die normalen Verhältnisse wieder zurück. 10 Tage nach der letzten Phlorrhizininjektion finden wir nach Aufnahme von 8 g Rindfleisch eine Kalorienproduktion von 5,59, die auch in der Vorperiode anzutreffen ist. 14 Tage nach Abschluß der Phlorrhizinversuche *sinkt* der Grundumsatz auf 4,80 Cal pro Kilogramm und Stunde. Diese Erscheinung sieht man nicht selten nach Phlorrhizineingabe. Beträchtliche Körpergewichtszunahmen sind in dieser Nachperiode ebenfalls keine Seltenheit.

Versuchsserie VI.

Die normale spezifisch-dynamische Fleischwirkung beträgt bei diesem Tier etwa 9 Proz., eine Zahl, welche am allermeisten bei der Ratte angetroffen wird. Unter dem Einfluß der wiederholten Phlorrhizininjektion steigt diese Zahl auf 16 bis 26 Proz. und sinkt, sobald die Phlorrhizindarreichung aufhört. Auffallend ist auch hier die Abnahme des Grundumsatzes nach Aufhören der Phlorrhizindarreichung. Im Versuch 1690, 2 Wochen nach der letzten Phlorrhizininjektion, beträgt der Grundumsatz 4,98 Cal gegen 5,92 Cal in der Normalperiode. Parallel dazu verläuft eine Zunahme des Körpergewichts.

Bei der

Versuchsserie VII

handelt es sich um eine kurzdauernde Reihe von Versuchen mit kleineren Mengen Phlorrhizin. Die normale spezifisch-dynamische Wirkung, die in diesem Falle 12 Proz. beträgt, bleibt zuerst durch das Phlorrhizin unbeeinflußt, steigt aber zuletzt auf 36 Proz., d. h. auf das Dreifache des normalen Wertes. Einen analogen Verlauf zeigten fast alle anderen Versuche.

Versuchsserien VIII und *IX.*

Es handelt sich hier um zwei Parallelreihen, welche an verschiedenen Tieren ausgeführt wurden. Die Versuchsanordnung weicht insofern etwas ab, als hier zuerst das Phlorrhizin in alkoholischer Lösung eingegeben wurde. Die Resorption des Präparats wird aber dadurch kaum begünstigt, eher vielleicht verschlechtert, denn die Alkoholinjektionen erzeugen leicht Hautnekrosen. In den späteren Versuchen wurde wie früher eine Ölsuspension von Phlorrhizin benutzt. Ferner wurden diese Gaswechselversuche bei einer Temperatur von 22 bis 25° ausgeführt, die etwas unterhalb der kritischen Temperatur (28°) liegt. Das Tier der Versuchsserie VIII zeigte nach Fleischaufnahme in der Normalperiode keine spezifisch-dynamische Wirkung. Auch während der Injektion der alkoholischen Phlorrhizinlösung war die spezifisch-dynamische Wirkung gleich Null. Sobald aber das Phlorrhizin in Ölsuspension injiziert wurde, nahm die spezifisch-dynamische Wirkung immer zu und erreichte zuletzt den Wert von 22,8 Proz. Beim Tier der Versuchsserie IX war die alkoholische Einverleibung des Phlorrhizins ebenfalls ohne jede Wirkung. Unter dem Einfluß der Injektion von Phlorrhizin stieg die spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches von 5 Proz. in der Normalperiode auf 20 und 27 Proz. (im Maximum) in den Versuchen 1738 und 1742. Auch in den Versuchen 1740 und 1744 ist die spezifisch-dynamische Wirkung gegenüber der Vorperiode erhöht.

Zusammenfassung.

1. Es wurde mehrfach die Ansicht geäußert, daß die spezifisch-dynamische Wirkung mit der Kohlehydratneubildung in Zusammenhang steht. In früheren eigenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß manche experimentell erzeugte Störungen des Kohlehydratstoffwechsels (z. B. durch Verfütterung von Schilddrüsensubstanz, von Tyramin, Phenyläthylamin, von Adrenalin und anderem) von einer Erhöhung des Grundumsatzes und zugleich von einer Zunahme der spezifisch-dynamischen Wirkung begleitet werden.

2. Um die Beziehungen der spezifisch-dynamischen Wirkung zum Zuckerumsatz weiter zu verfolgen, wurde der Einfluß des Phlorrhizins auf die spezifisch-dynamische Fleischwirkung untersucht. Die Versuche ergaben, daß nach wiederholten Injektionen von Phlorrhizin die spezifisch-dynamische Wirkung des Fleisches meistens ganz beträchtlich anwächst. Es darf angenommen werden, daß der erhöhte Bedarf an Kohlehydrat eine vermehrte Zuckerneubildung aus Eiweiß veranlaßt, und daß diese Vorgänge den allgemeinen Vorstellungen nach mit lebhaften exothermen chemischen Reaktionen gekoppelt sind.

3. Auch die von *Rubner* aufgefundene Erscheinung der sogenannten sekundären spezifisch-dynamischen Eiweißwirkung nach einer längerdauernden, einseitigen Fleischernährung beruht wahrscheinlich auf einer Veränderung des Kohlehydratumsatzes und auf einer damit zusammenhängenden erhöhten Zuckerbildung aus Eiweiß.

4. Da es sich bei der spezifisch-dynamischen Wirkung vornehmlich um ein Problem des intermediären Nahrungsstoffwechsels handelt, wird vorgeschlagen, den Vorgang als „*intermediäre chemische Nährstoffarbeit*" zu bezeichnen. Die Natur und der Umfang dieser intermediären chemischen Prozesse wird durch eine Reihe von Faktoren, wie allgemeine Stoffwechsellage, Bedarf des Organismus an Eiweiß, Fett und Kohlehydrat, Zustand des vegetativen Nervensystems usw. beeinflußt. Dementsprechend muß in all solchen Fällen auch die Größe der spezifisch-dynamischen Wirkung verschieden sein.

Methodische Mitteilungen. VII.

Von

Ludwig Pincussen.

(Aus der biologisch-chemischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 14. März 1927.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

1. Chinhydron-Mikroelektrode.

Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration geringer Flüssigkeitsmengen stößt noch immer auf Schwierigkeiten. Durch die Anwendung der Chinhydronelektrode sind diese nun in gewissem Maße vermindert worden; der Umstand, daß das Chinhydron nur für Messungen bis höchstens p_H 8 brauchbar ist, beschränkt zwar den Kreis der prüfbaren Lösungen; da aber vor allem die Gewebssäfte in das für die Prüfung mögliche Bereich fallen, ist die Anwendbarkeit doch genügend weit.

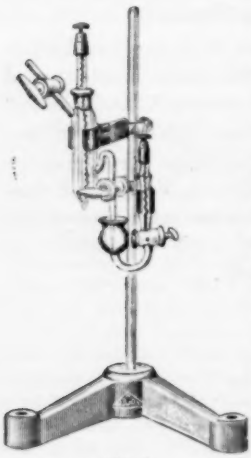


Abb. 1.

Als zweite Halbelektrode kann man bekanntlich sowohl eine Chinhydronelektrode als auch eine andere Bezugselektrode, vor allen Dingen die Kalomelelektrode, verwenden. Das Arbeiten mit dieser gestaltet sich außerordentlich angenehm und einfach, so daß es mir scheint, daß der Kalomelelektrode als Bezugselektrode der Vorzug zu geben ist. Die nachfolgend beschriebene Mikrochinhydronelektrode ist so konstruiert, daß sie in einem Stück sowohl die Elektrode selbst umfaßt, als auch ein mit dieser in Verbindung stehendes Reservoir zur Aufnahme der gesättigten Kaliumchloridlösung, in welche der Schenkel der Kalomelelektrode direkt eintaucht. Die eigentliche

Elektrode besteht aus einem Glasrohr von ungefähr 4 cm Länge und 0,8 cm Durchmesser. Am oberen Ende ist ein Schliff angebracht, in welchen das Zuleitungsstück aus Glasrohr mit unten herausragender Platinelektrode hineinpaßt. An dieses eigentliche Elektrodengefäß schließt sich nun unten ein halbrund gebogenes Glasrohr an, das durch einen einfach durchbohrten Hahn mit der Elektrode kommuniziert. Dieses gebogene Glasrohr endet in einem Bassin von ungefähr 2 cm Durchmesser und gleicher Höhe. Der Hahn zwischen Elektrode und der Fortsetzung zum Bassin ermöglicht einesteils eine freie Kommunikation zwischen beiden Teilen: Füllt man also das Bassin mit der konzentrierten Kaliumchloridlösung, so fließt beim Offenstehen des Hahnes die Salzlösung durch den Hahn in die Elektrode hinein. Schließt man nun den Hahn, so genügt, wie ja längst bekannt ist, schon die kapillare Schicht der Salzlösung in der Regel, um eine leitende Verbindung herzustellen. Damit aber, wie sich gelegentlich herausgestellt hat, die Leitfähigkeit nicht sinkt, ist es besser, die Oberfläche des Hahnes ringsherum fein einzuritzen, wodurch sichere, gleichbleibende Stromleitung garantiert wird. Das Arbeiten mit der Elektrode gestaltet sich dann also folgendermaßen.

Während der Hahn offen ist, wird das Bassin so weit mit Kaliumchloridlösung gefüllt, bis ein Teil der Flüssigkeit durch den offenen Hahn in das Elektrodengefäß eintritt. Der Hahn wird nun geschlossen; die im Elektrodengefäß befindliche Lösung mit etwas Fließpapier abgesaugt, mit Wasser oder besser mit der zu untersuchenden Lösung gewaschen und nunmehr die zu messende Lösung selbst eingefüllt. Die im allgemeinen gebrauchte Menge beträgt 0,3 bis 0,5 ccm, kann aber noch weiter, bis auf ungefähr 0,1 ccm, reduziert werden. Man mischt ein wenig Chinhydron hinzu und setzt nun die vorher gereinigte, eventuell ausgeglühte Elektrode ein, die natürlich in die Flüssigkeit eintauchen muß. Man bringt den Apparat nun in das Stativ; an dasselbe andererseits eine Kalomolelektrode, welche mit ihrem offenen Schenkel in das mit KCl-Lösung gefüllte Bassin der Chinhydronelektrode eintaucht. Man verbindet in üblicher Weise und macht die Messung; das Potential stellt sich außerordentlich schnell ein.

Die Berechnung ist (vgl. *Michaelis*, Praktikum, 3. Aufl.) sehr einfach; man mißt zunächst, mindestens täglich einmal, den Potentialunterschied der Chinhydronelektrode mit Standardacetat gegen die gesättigte Kalomelelektrode, dann den Potentialunterschied der Chinhydronelektrode mit der zu prüfenden Lösung gegen dieselbe Kalomelelektrode. Die Füllung der Mikroelektrode mit Kaliumchlorid braucht hierbei nicht gewechselt zu werden. Man wäscht nur den Elektrodenraum aus und füllt ihn mit der neuen Lösung. Die Kalomelelektrode muß bei dieser Versuchsanordnung negativ geschaltet

werden, also umgekehrt wie bei der Gaselektrode. Das p_H berechnet sich dann nach der Formel (*Michaelis*, l. c.)

$$p_H = 4{,}62 + \frac{E}{V},$$

wo E elektromotorische Kraft Chinhydronelektrode mit Standardacetat: Kalomelelektrode minus elektromotorische Kraft Chinhydronelektrode mit der zu untersuchenden Lösung: Kalomelelektrode in Millivolt bezeichnet und V folgende Werte hat:

bei 15° . . . 57,1	bei 18° . . . 57,7	bei 21° . . . 58,3
„ 16 . . . 57,3	„ 19 . . . 57,9	„ 22 . . . 58,5
„ 17 . . . 57,5	„ 20 . . . 58,1	„ 23 . . . 58,7

E wird negativ, wenn die elektromotorische Kraft Versuchslösung: Kalomelelektrode größer ist als die elektromotorische Kraft Standardacetat: Kalomelelektrode; in diesem Falle ist das p_H naturgemäß kleiner als 4,62, während es im anderen Falle größer wird.

Man kann für diese Elektrodenkombination natürlich jede Meßeinrichtung verwenden.

2. Zur Methodik der Blutgasanalyse.

Verzár hat, wie ich schon in der letzten Ausgabe meiner Mikromethodik erwähnt habe, den *Barcroft*-Apparat mit einer kalibrierten Pipette so verbunden, daß nach Anstellung der Reaktion in der üblichen Weise eine Verbindung zwischen dem Manometer und der Meßpipette hergestellt wird, und nun aus der Verschiebung der Flüssigkeit in der Meßpipette, welche notwendig ist, um die durch die Gasentwicklung entstandene Niveaudifferenz im Manometer auszugleichen, sofort die entwickelte bzw. gebundene Gasmenge abgelesen werden kann. Diese Methode, welche außerordentlich einfach zu handhaben ist und insbesondere die zeitraubende, für jede Flüssigkeitsmenge von neuem erforderliche Bestimmung der Konstanten umgeht, wird noch erleichtert durch eine Anordnung, wie sie im „*Migos*"-Apparat getroffen ist, in welchem die Verbindung zwischen Manometer und Meßpipette nicht wie in der Originalanordnung von *Verzár* durch einen Gummischlauch erfolgt, sondern mit Hilfe eines Vielwegehahns, der drei Möglichkeiten erlaubt: 1. Verbindung des Manometerschenkels und der Meßpipette mit der freien Atmosphäre, 2. Verbindung des Manometerschenkels mit der Flasche, 3. Verbindung von Manometerschenkel und Flasche mit der Meßpipette.

Zur Bestimmung des CO_2-Gehalts des Kapillarblutes empfiehlt *Verzár*[1]) eine Trichterpipette, die zunächst bis oben hin mit Queck-

[1]) Diese Zeitschr. **151**, 246, 1924.

silber gefüllt wird, über das in dem Trichter 2 ccm einer Saponinlösung gegeben werden, welche[1]) folgendermaßen zusammengesetzt ist: 2 ccm 25proz. Ammoniak, 5 g Natriumcitrat, 0,5 g Saponin, Wasser zu 100. Darüber wird ungefähr 1 ccm Paraffinöl geschichtet. Es wird in den gereinigten Finger eingestochen, dieser unter das Paraffin gebracht und auf diese Weise das ausfließende Blut direkt von der Saponincitratlösung aufgenommen und hämolysiert. Man zieht den Finger heraus, läßt das Quecksilber nach Öffnen des unteren und oberen Hahnes ablaufen und hat dann zwischen Quecksilber und Paraffin die bluthaltige Flüssigkeit, mit der direkt die Analyse, sei es für Sauerstoffbestimmung, sei es für CO_2-Bestimmung angestellt werden kann. Die Menge des Blutes ergibt sich aus der zwischen den beiden Menisken abgelesenen Gesamtmenge minus 2 ccm (Saponincitratlösung). Da man bei der *Verzár*schen Anordnung nicht an bestimmte Flüssigkeitsmengen gebunden ist, benutzt man zur Analyse die gesamte Flüssigkeitsmenge, welche man nach Ablaufen des Quecksilbers unter eine genau abgemessene Menge Saponinlösung in der betreffenden Flasche schichtet; in die andere Flasche wird dann einfach die gleiche Menge Flüssigkeit eingefüllt.

Diese Methode, welche grundsätzlich sehr angenehm ist und auch in der Hand von *Verzár* gute Resultate gab, machte uns aus zwei Gründen einige Schwierigkeiten. Zunächst war die Eichung der nach *Verzárs* Vorschrift angegebenen Trichterpipetten nicht fein genug, um mit wünschenswerter Genauigkeit die Menge Flüssigkeit abzulesen. Dem läßt sich dadurch begegnen, daß man das Rohr etwas länger und enger macht und feiner teilt. Es entsteht freilich eine im wesentlichen theoretische Schwierigkeit aus den Menisken zwischen Flüssigkeit und Quecksilber einerseits, Flüssigkeit und Paraffinöl andererseits. Auf Grund empirischer Feststellungen muß hier eine kleine Korrektur angebracht werden; bei der stets notwendigen Eichung der Trichterpipette durch Einfüllen von 2 ccm (aus geeichter Pipette) zwischen Hg und Paraffingemisch wird diese mitbestimmt. Die Eichung ergibt in der Regel einen etwas kleineren Wert als 2 ccm, da der Meniskus Flüssigkeit : Paraffin nach unten, der Flüssigkeit : Hg nach oben zeigt. Eine zweite Fehlerquelle ergibt sich dadurch, daß beim Herausziehen des in die Citratflüssigkeit eingetauchten Fingers ein Mitnehmen von wässeriger Flüssigkeit fast unvermeidbar ist, so daß also die einpipettierten 2 ccm nicht vollständig zurückbleiben. Andererseits haben wir wiederholt gesehen, daß das Blut nach dem Eintauchen ziemlich träge fließt. Aus diesem Grunde habe ich den Trichter größer gestaltet. Ich tue, wie *Verzár*, 2 ccm Saponinlösung hinein und über-

[1]) *Verzár* und *Keller*, ebendaselbst **114**, 21, 1923.

schichte diese mit 2 bis 3 ccm einer blutwarmen Mischung von Paraffin und Petroläther. Ich lasse nun den Finger, nachdem der Einstich mit der *Franckes*chen Nadel erfolgt ist, nur in diese erwärmte Mischung eintauchen. Unter diesen Verhältnissen fließt das Kapillarblut sehr gut und passiert schnell die Paraffinschicht, um dann von der Saponincitratlösung aufgenommen zu werden. Man kann, wenn man will, mit einem kleinen Glasstab die Mischung beschleunigen. Das übrige Verfahren entspricht vollständig dem von *Verzár* angegebenen.

Abb. 2.

Ich möchte auf die schon von *Verzár* gegebene Vorsichtsmaßregel aufmerksam machen, daß in jedem Falle entweder, und zwar auch bei CO_2-sicherer Aufbewahrung, häufig der CO_2-Gehalt der Saponincitratlösung bestimmt werden muß oder, was noch besser ist, daß in die zweite Flasche nicht etwa Wasser, sondern Saponincitratlösung und Weinsäurelösung in gleicher Menge wie in der mit Blut beschickten Flasche eingefüllt werden muß. Man erhält sonst CO_2-Werte, die das Vielfache der wirklich vorhandenen betragen. Beachtet werden muß auch für die CO_2-Bestimmung, daß die Saponinlösung stark alkalisch ist und daß die sonst angewandte 20proz. Weinsäurelösung nicht genügt, um die Lösung anzusäuern und die CO_2 in Freiheit zu setzen. Anwendung einer 50proz. Weinsäurelösung hilft diesem Fehler ab.

3. Mikrotitrationsapparat.

Nach Untersuchungen von *Bjerrum*, *Rehberg* und anderen ist es für Titrationen erheblich günstiger, mit konzentrierten als mit verdünnten Lösungen zu arbeiten. In ersterem Falle ist die Fehlergrenze kleiner, der Umschlag deutlicher. Für die theoretischen Grundlagen, insbesondere für die Säuretitration, sei auf die Arbeit von *Rehberg*[1]) verwiesen. Derselbe Autor hat auch eine für solche Titrationen brauchbare Bürette angegeben, die aber in mehrfacher Hinsicht Nachteile aufweist.

Zur Vermeidung dieser habe ich eine neue Bürette konstruiert, welche Abbildung 3 darstellt.

Das Hauptstück der Bürette besteht aus einem fast kapillaren Rohre, das zwischen den Marken 0,1 ccm faßt. Dieser Zwischenraum ist in 100 Teile geteilt, so daß Kubikmillimeter direkt abgelesen, bis $^1/_4$ cmm bei Anwendung einer Lupe geschätzt werden können. An seinem oberen Teile trägt das Bürettenrohr einen Hahn mit zwei Wegen, deren einer zu einem Reservoir führt, während bei Umstellung des Hahnes eine Verbindung

[1]) Biochem. Journ. **19**, 270, 1925.

mit einem Ansatzrohr zur Bürette geschaffen wird, das, von demselben Kaliber wie diese, zweimal rechtwinklig umgebogen ist und in einer ziemlich feinen Spitze endet. Das untere Ende der Bürette trägt einen Schliff, auf den ein etwas weiterer Teil aufgesetzt werden kann, in welchen eine feingängige Eisenschraube absolut dicht eingelassen ist. Dieser untere Teil wird, nachdem die Eisenschraube ziemlich tief gestellt ist, mit Quecksilber gefüllt und nunmehr der ganze Teil fest auf den Schliff des Hauptteiles aufgesetzt. Durch Metallspiralen wird eine feste Verbindung zwischen den beiden Teilen gewährleistet. Durch Drehen der Schraube kann nun das Quecksilber mehr oder weniger hoch in die Bürette eingetrieben werden.

Abb. 3.

Diese ganze Einrichtung ist an einem Stativ befestigt, das außerdem ein verschiebbares Gestell trägt, in welches zwei Reagenzgläser (12 × 100) eingesetzt werden können. Dabei sind die Abstände so gewählt, daß das Ansatzstück der Bürette gerade in die Mitte des einen Reagenzglases trifft und mit seiner Spitze bis kurz über den Boden reicht. Während dieses Reagenzglas zur Aufnahme der zu titrierenden Flüssigkeit dient, wird in ein daneben stehendes eine Lösung mit dem bei der Titration zu erreichenden Farbton gegeben. Eine hinter den beiden Gläsern angebrachte, undurchsichtige Scheibe dient dazu, das Ende der Titration (bei auffallendem Lichte) schärfer erkennen zu lassen. In das für die Titration benutzte Reagenzglas ragt außerdem noch ein fein ausgezogenes Glasrohr, welches durch einen Schlauch mit einem Doppelgebläse verbunden ist, so daß die Flüssigkeit durch Luftdurchleitung dauernd in Bewegung gehalten wird. Zur Regulierung der Luftzufuhr befindet sich an dem Schlauche eine einfache Klemmschraube; es ist auf diese Weise möglich, durch einmaliges Aufpumpen des Gebläses automatisch längere Zeit Luftblasen durch die Titrierflüssigkeit durchgehen zu lassen. Um eventuell schädliche Gase, z. B.

Kohlensäure, abzuhalten, wird ein mit passender Füllung versehenes, also z. B. mit Natronkalk gefülltes, Glasrohr zwischengeschaltet.

Das Arbeiten mit dem Apparat geschieht in folgender Weise. Nachdem der Mikrotitrationsapparat in der oben geschilderten Art zusammengesetzt ist, wird der Hahn am oberen Ende so eingestellt, daß eine Verbindung zwischen Bürette und Reservoir besteht. Nun wird durch Drehen der Eisenschraube das Quecksilber bis in die Bohrung des Hahnes hochgetrieben und nun das Reservoir mit der Titrierflüssigkeit gefüllt. Durch Senken des Quecksilbers wird die Flüssigkeit in die Bürette hereingezogen, der Hahn nun umgestellt und die Flüssigkeit so weit hochgedrückt, daß sie das Ansatzstück, einschließlich der Spitze, vollkommen füllt. Nach wiederholter Umstellung des Hahnes wird durch Senken des Quecksilbers neue Lösung in die Pipette, am besten bis zur Marke 0 eingesaugt; nachdem der Hahn nun wieder umgestellt ist, ist die Bürette zum Gebrauch bereit.

Es wird nunmehr die zu titrierende Lösung mit Indikator in dem Reagenzglas in das Gestell eingesetzt (daneben, wenn gewünscht, die Kontrollprobe mit der Titrationsendfarbe) und das Gestell so weit gehoben, daß das ganz gefüllte, äußerlich aber von Titrationsflüssigkeit freie Ansatzrohr bis fast auf den Boden reicht. Zugleich wird das für die Luftdurchleitung bestimmte feine Rohr eingesetzt und, wie oben beschrieben, vorsichtig Luft (zwei bis drei Bläschen pro Sekunde) durchgeleitet. Durch Betätigung der Eisenschraube wird die Titrierflüssigkeit in die Lösung hineingetrieben, bis der Umschlag erfolgt ist. Die Vorrichtung erlaubt genaueste Zugabe. Es wird dann mit Hilfe einer Lupe abgelesen und im übrigen wie gewöhnlich verfahren.

Genügt die in der Bürette befindliche Lösung nicht zur Beendigung der Titration, wird, nachdem die Marke 0,1 erreicht ist, der Hahn umgestellt, neue Lösung aus dem Reservoir eingefüllt und nach Rückdrehung weiter titriert. In derselben Weise verfährt man, wenn man mit derselben Lösung mehrere Titrationen ausführen will.

Will man dieselbe Bürette für eine andere Titrationsflüssigkeit benutzen, entleert man zunächst die in der Bürette befindliche Flüssigkeit in das Reservoir, dreht den Hahn um, zieht aus dem Ansatzstück die Lösung in die Bürette hinein und bringt auch diese nach Rückdrehung des Hahnes in das Reservoir. Dieses kann nun mit einer Pipette oder dergleichen entleert werden; man füllt es dann zunächst mit Wasser, wäscht damit Bürette und Ansatzstück aus und tut ebenso mit der neuen Titrierflüssigkeit. Praktischer ist es, für jede Flüssigkeit ein neues Hauptstück mit Hahn und Ansatzstück zur Verfügung zu haben, das auf das vorhandene Unterteil paßt.

Will man zum Titrieren Lösungen verwenden, welche gegen Quecksilber nicht indifferent sind, so ist es nur nötig, zwischen Lösung und Quecksilber eine kleine Luftblase einzuschalten. In diesem Falle verfährt man so, daß man beim Füllen der Bürette das Quecksilber nicht ganz bis oben drückt; beim Einziehen der Lösung aus dem Reservoir bleibt dann zwischen Quecksilber und Lösung eine Luftblase, die in keiner Weise stört und immer mit dem Quecksilber mitgeht. Sie muß berücksichtigt werden, wenn man die Ablesungen macht; der Stand der Flüssigkeit muß natürlich von ihrer Grenze gegen die Luftblase gerechnet werden.

Die hier beschriebenen Apparate werden von der Firma M. J. Goldberg und Söhne, Berlin W 9, angefertigt.

Über die Beeinflussung des Fettstoffwechsels durch Belichtung.

Von

Alexei Kultjugin (Saratow).

(Aus der biologisch-chemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 14. März 1927.)

Durch eine große Reihe von Untersuchungen ist der Stoffwechsel der verschiedenen Substanzen unter Bestrahlung geprüft worden [Literatur s. bei *Pincussen* (1)]. Es hat sich ergeben, daß die Wirkung der Strahlung in fast allen Fällen eine außerordentlich deutliche und gesetzmäßige war, und daß sowohl der Stoffwechsel der Mineralsubstanzen wie der Eiweißkörper und Purine in ganz erheblicher Weise beeinflußt wird. Die Untersuchungen, besonders von *Pincussen* und seinen Mitarbeitern haben ergeben, daß insbesondere die Verarbeitung und Art des Abbaues bei Kohlehydraten und bei Purinen ganz klaren Gesetzen gehorcht, indem der Zucker sowohl im Blute wie im Harn unter Bestrahlung mit verschiedenen Lichtquellen, namentlich unter der Zusatzwirkung mittels fluoreszierender Substanzen erheblich abnahm, daß der Abbau der Purine nicht nur quantitative, sondern vor allen Dingen auch qualitative Änderungen aufwies, indem der Abbau unter Lichtbestrahlung erheblich weiter ging als unter anderen normalen Verhältnissen. Ähnlich ist es bei dem Eiweißstoffwechsel. Diese Veränderungen des Stoffwechsels, erschlossen aus Veränderungen im Harn und im Blute, sind zum Teil mindestens auf einfache oxydative Wirkungen zurückzuführen, zum anderen Teile aber auch auf Veränderungen der Fermentwirkung. Wie in einer Anzahl Arbeiten aus dem hiesigen Institut gezeigt worden ist, wirkt die Lichtstrahlung in weitestem Sinne, also einschließlich des Ultravioletts, schädigend auf isolierte Fermente. Im Organismus liegen die Dinge aber nicht ganz so einfach. Es dürften sich hier in den meisten Fällen die Fermentwirkungen in der Zelle nicht einfach aus einer Schädigung durch die Strahlung erschließen lassen, sondern wir haben es hier sehr wahr-

scheinlich auch mit einer Veränderung der Substrate durch die Strahlung, andererseits auch mit veränderten Milieuverhältnissen zu tun. So hat sich z. B. in neuen Versuchen [*Pincussen* (2)] herausgestellt, daß die Verteilung der Kationen in Organen belichteter Tiere eine zum Teil sehr erheblich von der normaler Tiere abweichende ist. Ohne daß wir bisher einen Schlüssel dafür haben, wie eine solche Veränderung zustande kommt, müssen wir der Tatsache eine erhebliche Bedeutung beimessen, da wir wissen, daß Fermentwirkungen gerade durch die Salzverteilung im Milieu sehr erheblich beeinflußt werden können.

Im Gegensatz zu der wiederholten Bearbeitung sowohl des Mineralstoffwechsels wie des Stoffwechsels der Kohlehydrate, Eiweißkörper und Purine unter Licht ist das Verhalten des Fettstoffwechsels noch außerordentlich wenig studiert. Zwar konnten *Pincussen* und *Anagnostu* (3) zeigen, daß die normalerweise im Blutserum vorhandene Lipase durch Bestrahlung mit kurzwelligem Lichte zum Teil erheblich geschädigt wird, und daß eine geringe Schädigung auch bei Bestrahlung des Gesamttieres auftritt. Diese Ergebnisse, die im übrigen von anderer Seite nicht reproduziert werden konnten, sind bisher wohl die einzigen auf diesem Gebiet geblieben. Es schien daher außerordentlich wichtig, dieser Frage weiter nachzugehen.

Als Versuchstiere dienten weiße, schwarzgefleckte Kaninchen, die mit einer durchaus gleichbleibenden Nahrung gefüttert wurden; diese bestand im wesentlichen aus einer zureichenden und in der Regel völlig aufgenommenen Menge von rohen Kartoffeln, 200 g, denen zur Vermeidung von Durchfällen 15 g Hafer täglich zugefügt waren. Wie die späteren Tabellen ergeben werden, war diese Nahrung zum mindesten für die Erhaltung des Gewichts völlig ausreichend; auch der Stickstoffgehalt war durchaus genügend. Eine Analyse der Kartoffeln — es wurde nur die gleiche Sorte verfüttert — ergab einen Wassergehalt von 71,51 Proz., eine Trockensubstanz von 28,49 Proz. Die Trockensubstanz enthielt 1,74 Proz. Kalium, 0,08 Proz. Calcium und 0,065 Proz. Phosphor, ferner 0,949 Proz. Stickstoff und 0,011 Proz. Fett. Damit kamen die Tiere, wie gesagt, ohne weiteres aus. Die Versuchsanordnung war die folgende, da nicht nur der Fettstoffwechsel untersucht werden sollte, sondern auch die wichtigsten Kationen bezüglich ihrer Ausscheidung und auf ihre Menge im Blute nachgesehen werden sollten, ferner naturgemäß auch besonders der organische Phosphor (Lipoidphosphor) berücksichtigt werden mußte. Leider konnte aus äußeren Gründen eine Wiederholung der früheren Versuche über die Beeinflussung des fettspaltenden Ferments nicht angeschlossen werden, ebensowenig eine Untersuchung der Organe, speziell auf Fettgehalt, die einer späteren Untersuchung vorbehalten bleiben muß, insbesondere, da die Resultate dieses Versuchs eine Entscheidung über diesen Punkt äußerst wünschenswert machen.

Die Tiere wurden im allgemeinen in einem schwach erhellten Raume in Stoffwechselkäfigen gehalten. Harn wurde täglich abgenommen, kam aber in der Regel von mehreren Tagen gemeinsam zur Unter-

suchung. Einer Vorperiode folgte eine dreitägige Bestrahlung durch eine Quarzlampe bei 220 Volt Spannung, welche 15 Minuten, 60 cm vom Rücken der Tiere entfernt, auf sie einwirkte. Einer Zwischenperiode folgte eine Bestrahlung in gleicher Weise von zweimal 3 Tagen, zum Schluß eine kurze Endperiode. Die Blutuntersuchungen wurden in regelmäßigen Zwischenräumen ausgeführt, und zwar erfolgte die Entnahme stets am Tiere, das sein Futter am Tage vorher aufgefressen hatte und vom Abend bis zum nächsten Morgen nüchtern geblieben war. Diese Prüfungen erfolgten einige Male vor der Bestrahlung, sodann am Tage nach der letzten Bestrahlung der betreffenden Serie. Es mag hierbei gleich bemerkt werden, daß die Werte, besonders des Fettes, in keiner Weise durch den Aderlaß bedingt sein können, da sie sich mit Ausnahme der Bestrahlungsperioden durchaus unverändert und nicht erhöht zeigten.

Die nachstehenden Tabellen geben bei den zwei untersuchten Kaninchen die Gesamtausscheidungen der untersuchten Substanzen im Harn. Bezüglich des Gewichts sei, bezugnehmend auf das bereits Gesagte, nochmals betont, daß dieses sich so gut wie nicht änderte, daß besonders unter Bestrahlung eine charakteristische Abnahme nicht zu bemerken war. Kaninchen 1 hatte ein Anfangsgewicht von 2200 g, ein Endgewicht von 2300 g; das Höchstgewicht war 2350 g, das Mindestgewicht 2200 g. Kaninchen 2 kam in den Versuch mit 2150 g, aus demselben mit 2050 g; Höchstwert war 2150 g, der niedrigste 1950 g.

Die Methodik der Harn- und Blutuntersuchungen folgte den im hiesigen Institut üblichen Regeln. Es sei nur bemerkt, daß der Gesamtfettgehalt des Blutes nach der ebenfalls in der Mikromethodik von *Pincussen* angegebenen Weise bestimmt wurde, indem das zuerst mit Salzsäure in der Hitze behandelte Blut mit Äther extrahiert wurde und im Ätherextrakt das Fett nach Oxydation mit Chromsäure titrimetrisch bestimmt wurde. Diese Methode, welche also das gesamte Fett, auch die mit anderen Methoden der einfachen Extraktion nicht gewinnbaren, festgebundenen oder eingeschlossenen Fettsubstanzen bestimmt, gab uns auch hier ausgezeichnete und in Kontrollen gut übereinstimmende Werte. Es ist selbstverständlich notwendig, exakt zu arbeiten. Eine Bestimmung des anorganischen und organischen Phosphors im Harn wurde zwar ausgeführt, doch sind hierbei keine irgendwie verwertbaren Resultate gewonnen worden. Ich begnüge mich daher, den anorganischen Harnphosphor mitzuteilen. Differenz zwischen anorganischem und Gesamtphosphor war stets sehr gering. In den nachfolgenden Tabellen sind die Bestrahlungen an dem Tage eingetragen (umrahmt), an welchem sie im Stoffwechsel erscheinen, d. h. also, für die Periode, welche der Bestrahlungsperiode folgte.

Kaninchen 1.

Täglich ausgeschieden (mg).

Datum	Gesamt-N	Anorgan. Phosphor	Calcium	Kalium	Magnesium
9. X.	410	68,6	18,23	500	10,53
11. X.	405	70,6	13,86	649	8,55
13. X.	420	68,6	11,7	655	7,1
15. X.	548	52,7	16,15	586	10,82
18. X.	313	49,3	15,86	712	12,47
20. X.	827	74,2	16,00	770	9,41
25. X.	503	42,88	17,5	666	6,77
28. X.	513	51,17	8,83	587	8,62
30. X.	560	33,8	18,0	688	11,68
3. XI.	588	37,4	17,85	662	12,50
6. XI.	502	40	16,17	640	11,97
9. XI.	478	37,97	15,75	654	10,93
13. XI.	368	53,97	19,07	755	13,33
16. XI.	504	52,07	19,4	798	13,58
20. XI.	479	47,7	18,18	772	14,78
24. XI.	665	52,01	16,72	890	14,51

Kaninchen 2.

Täglich ausgeschieden (mg).

Datum	Gesamt-N	Anorgan. Phosphor	Calcium	Kalium	Magnesium
9. X.	347	30,0	15,8	256	8,2
11. X.	758	31,5	15,5	291	78
13. X.	536	29,7	9,3	352	5,8
15. X.	272	47,5	11,7	302	5,7
18. X.	683	39,8	15,2	423	8,7
20. X.	429	40,9	14,7	544	8,6
25. X.	336	28,4	13,1	482	8,6
28. X.	504	45,1	6,8	525	7,6
30. X.	575	44,3	9,9	632	7,6
3. XI.	420	33,0	14,1	596	9,8
6. XI.	315	38,9	14,2	623	10,5
9. XI.	290	33,9	13,6	532	8,6
13. XI.	382	38,9	14,8	766	8,6
16. XI.	386	29,9	15,5	614	8,0
20. XI.	378	31,1	13,4	737	5,6
24. XI.	508	35,1	11,6	686	6,0

Eine Analyse dieser Tabellen ergibt, daß zunächst einmal die Verschiebungen nicht ganz gleich sind, ob die Bestrahlung das erste Mal angewandt wurde, oder ob nach einer kurzen Pause eine zweite Bestrahlung appliziert wurde. Was zunächst den Stickstoff betrifft, so ergibt er, entsprechend den allgemeinen Versuchen, die beim Kaninchen, das gerade Stickstoff ziemlich ungleichmäßig ausscheidet, nicht

ganz einheitlich sind, daß in jedem Falle ein irgendwie charakteristisches Verhalten kaum festzustellen ist, es sei denn die Vermehrung, welche beim Kaninchen 2 besonders in der Folge zu konstatieren war. Beim Kaninchen 1 ist dagegen von charakteristischer Beeinflussung nicht die Rede, wir wissen ja auch, daß Zunahme der Stickstoffausscheidung höheren Grades nur dann zur Beobachtung gelangt, wenn die Strahlenwirkung sehr intensiv und durch fluoreszierende Farbstoffe oder andere in ähnlicher Richtung wirkende Körper, wie Jodkali, intensiviert wird. Die Beeinflussung der Phosphorausscheidung ist ebenfalls nicht sehr erheblich, es ergibt sich aber doch in verschiedenen Fällen eine gewisse Steigerung, die augenscheinlich mit der Mehrausscheidung des Kaliums, die außerordentlich deutlich ist — mit Ausnahme des ersten Versuchs am Kaninchen 1 —, im Einklang steht. Diese im allgemeinen erhöhte Kaliumausscheidung wurde auch von *Pincussen* in seinen Davoser Versuchen beobachtet. Ebenfalls diesen Versuchen entsprechend, ist in der ersten Strahlungsperiode eine sehr deutliche Abnahme des Kalkes festzustellen, die aber in der zweiten Periode beinahe in das Gegenteil umschlägt. Diese Zahlen zeigen wieder einmal, daß Lichtwirkung und Lichtwirkung nicht dasselbe ist, daß in sehr vielen Fällen es sich um eine Art Schockwirkung handelt, welche das ganze Getriebe des Organismus umstellt und die mit der Zeit einer gewissen Gewöhnung Platz macht. Charakteristisch sind aber auch hier wieder in erster Linie das Verhältnis des ausgeschiedenen Calciums zum Kalium. In den ersten Perioden geht das Verhältnis Kalium zu Calcium ungefähr auf das Doppelte herauf. Auch das Verhältnis Calcium zu Magnesium nimmt ganz erheblich ab, besonders sichtbar ebenfalls in den ersten Perioden; also durchaus in Bestätigung der oben genannten Davoser Versuche.

Was nun die Verhältnisse im Blute anbetrifft, so geben sie zum Teil außerordentlich überraschende Zahlen. Nachfolgend die Tabellen, in welchen die Werte in Milligrammen auf 100 ccm gegeben sind. Auch hier sind die auf die Bestrahlung bezüglichen Untersuchungen umrahmt.

Kaninchen 1.

Datum	Gesamtfett	Cholesterin	Anorgan. Phosphor	Organ. Phosphor	Calcium	Kalium	Magnesium
7. X.	92	30	7,4	6,1	15	22,4	2,67
11. X.	152	46	6,0	6,7	14	20,7	2,79
21. X.	143	50	4,7	5,6	16	18,7	2,78
28. X.	275	70	6,3	3,7	13	23,9	3,38
8. XI.	147	64	4,6	4,2	14	20,8	3,13
16. XI.	372	82	6,4	6,9	13	22,0	3,80
24. XI.	186	86	4,6	4,7	15	21,7	3,76

An Kaninchen 2 ergaben sich folgende Werte.

Kaninchen 2.

Datum	Gesamtfett	Cholesterin	Anorgan. Phosphor	Organ. Phosphor	Calcium	Kalium	Magnesium
7. X.	107	56	7,0	5,9	14	18,5	2,87
11. X.	164	70	4,3	5,6	12	18,1	2,90
21. X.	159	60	4,4	5,1	14	19,2	2,95
28. X.	717	80	5,8	4,0	11	22,2	3,42
8. XI.	137	58	5,0	4,4	14	21,9	3,18
16. XI.	303	62	7,5	6,1	13	23,3	3,33
24. XI.	141	52	5,7	4,8	15	22,9	3,14

Im Blute ergibt sich also, was den Phosphor betrifft, eine Zunahme des anorganischen in allen Fällen, während der organische Phosphor nach der ersten Bestrahlung eine Abnahme, nach der zweiten eine Zunahme zeigt. Das Calcium ist im Gegensatz zu den am Menschen ausgeführten Versuchen vermindert, das Kalium vermehrt. Wahrscheinlich hängen diese Verhältnisse mit der eigenartigen Struktur und Ionenzusammensetzung des Kaninchenblutes zusammen; es dürfte sich empfehlen, bei den verschiedenen Tieren, die ja eine durchaus veränderliche Zusammensetzung der Mineralbestandteile des Plasmas zeigen, von diesem Gesichtspunkt aus zu prüfen. Die erhebliche Zunahme des Magnesiums im Blute ist außerordentlich charakteristisch und hängt augenscheinlich auch mit der im Vergleich zum Calcium erhöhten Magnesiumausscheidung zusammen. Möglich ist auch, daß die Zeit der Blutentnahme sehr wesentlich ist. Es wird erforderlich sein, gerade den Kationenspiegel in ganz kurzen Intervallen zu untersuchen.

Besonders charakteristisch sind nun die Befunde, welche sich auf das Fett beziehen. Der Mehrgehalt des Blutes an Gesamtfett ist sehr groß und im höchsten Grade überraschend. Auch wenn man von der exzessiven Steigerung beim Kaninchen 2 nach der ersten Bestrahlung von 0,153 auf 0,716 Proz. absieht, die vielleicht durch irgendwelche besonderen Verhältnisse bedingt sein mag, so sind auch die anderen beobachteten Steigerungen, in allen Fällen auf mehr als das Doppelte, in hohem Grade charakteristisch. Von irgendwelchen Irrtümern aus der Versuchsanordnung heraus kann ebensowenig gesprochen werden, wie von Fehlern der regelmäßig doppelt ausgeführten und sehr gut stimmenden Analysen. Wie schon vorher erwähnt wurde, kann es sich auch nicht um die bekannte Steigerung des Fettgehalts nach Aderlässen handeln, da ja sämtliche Versuche unter gleichen Bedingungen, auch in praktisch gleichen Zwischenräumen, ausgeführt wurden. Gegen diese enorme Erhöhung des Gesamtfettes kommen die Erhöhungen

einzelner Komponenten gar nicht in Betracht. Das Cholesterin ist zwar ebenfalls regelmäßig erhöht, jedoch handelt es sich höchstens um eine Zunahme von 30 Proz. Über den organischen Phosphor wurde bereits gesprochen; erst nach der zweiten Bestrahlung findet sich eine Erhöhung der Lipoide, nach der ersten sogar eine gewisse Verminderung. Es kann sich also nur um Neutralfette bzw. Fettsäuren handeln, deren Menge diese erhebliche Steigerung erfahren hat.

Wie ist nun diese Tatsache zu erklären? Wir kennen bisher nur Lipämien kurze Zeit nach einer fettreichen Nahrung und außerdem in pathologischen Zuständen, und zwar außer beim Aderlaß, der schon erwähnt wurde und hier nicht in Frage kommt, beim Hunger, bei Vergiftungen und bei Diabetes. Es erscheint mir vorläufig unmöglich, hier eine Entscheidung zu treffen. Ein pathologischer Zustand im engeren Sinne liegt zweifellos nicht vor, da die Tiere in ihrem Gewicht gleichblieben, außerdem während des ganzen Versuchs ein durchaus normales Verhalten zeigten. Man kann also zunächst denken entweder an einen langsamen Stofftransport oder an eine Bildung von Fett aus anderen Substanzen. Eine solche wäre denkbar, wenn wir überlegen, daß unter Bestrahlung nach früheren Versuchen von *Rothmann* (4) der Zucker nicht nur im pathologischen Blute (*Pincussen*) abnimmt, sondern auch im normalen, und es wäre nicht ganz auszuschließen, daß es sich um eine Umwandlung von Zucker in Fett handelt. Ob diese supponierte Umwandlung von einer weiteren Ablagerung von Fett an anderen Stellen begleitet ist, müßten Versuche über den Fettgehalt bestrahlter Tiere ergeben. Wichtig erscheint in diesem Zusammenhang noch die erwähnte Beobachtung, daß durch Bestrahlung das fettspaltende Ferment im Blute vermindert ist. Man könnte sich doch vielleicht vorstellen, daß, wie schon gelegentlich angenommen worden ist, im Blute eine gewisse Aufspaltung des Fettes stattfindet, die nunmehr infolge der Schädigung des Ferments durch Strahlung erheblich zurückgesetzt ist.

Literatur.

1) *L. Pincussen*, Strahlentherapie **18**, 625, 1924; ferner Einzelarbeiten in dieser Zeitschr. 1919 bis 1926. — 2) *Derselbe*, diese Zeitschr. **182**, 359 1927. — 3) *L. Pincussen* und *J. L. Anagnostu*, ebendaselbst **128**, 268, 1922. — 4) *St. Rothmann*, Zeitschr. f. exper. Med. **36**, 398, 1926.

Die Fermente der Haut. VIII.

Von

J. Wohlgemuth.

Über Milchsäurebildung in der Haut und ihre Beeinflussung durch verschiedene Strahlenarten.

Von

Toshisuke Ikebata.

(Aus der chemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.)

(Eingegangen am 18. März 1927.)

Die allgemein verbreitete Annahme, daß die Haut als ein Organ mit sehr trägem Stoffwechsel zu betrachten ist, darf wohl als widerlegt gelten, seitdem der Nachweis einer großen Zahl von Fermenten in ihr gelungen ist. In einer Reihe von Arbeiten ist gezeigt worden, daß die Haut über manche Fermente in einem Ausmaß verfügt, wie sie mitunter in der Leber nicht viel wirksamer angetroffen werden. Besonders gilt das für die am Zuckerstoffwechsel beteiligten Fermente. Denn es wurde der Nachweis erbracht, daß der oxydative Zuckerabbau zu Acetaldehyd in der Haut in einem Umfange vor sich geht, der hinter dem der Leber kaum zurücksteht. Auch anaerobe Glykolyseversuche[2]) mit lebensfrischer Haut, gemessen mit der manometrischen Mikromethode von *Warburg*, ergaben Resultate, die für einen sehr regen Kohlehydratstoffwechsel in der Haut sprechen. Es resultierte hier als Durchschnittswert $Q_{CO_2}^{N_2} = +6{,}0$. Von menschlichen überlebenden Organen war der entsprechende Wert bisher nur für Lymphdrüse und Rachenmandel zu 4,7 bzw. 12,8 ermittelt [*Warburg*[3])]. Der Wert für menschliche Haut liegt somit zwischen beiden. Auch die aerobe Glykolyse wurde an der überlebenden menschlichen Haut studiert, ergab hier aber stets nur

[1]) *J. Wohlgemuth* und *Y. Nakamura*, diese Zeitschr. **173**, 258, 1926.
[2]) *J. Wohlgemuth* und *E. Klopstock*, ebendaselbst **175**, 202, 1926.
[3]) *O. Warburg, Posener* und *Negelein*, ebendaselbst **152**, 51 und 309, 1924.

sehr kleine Werte, entsprechend dem von *Warburg* aufgestellten Satz, wonach gutartig proliferierende Zellen einen Quotienten $\frac{Q^{O_2}_{CO_2}}{Q_{O_2}}$ liefern, der fast Null beträgt, im Gegensatz zu den bösartigen Geschwülsten, bei denen derselbe Quotient etwa 3 ist. Auch mit der Haut von menschlichen Leichen wurden Glykolyseversuche angestellt. Die Werte hierfür reichen bisweilen an die für lebensfrische Haut heran, der Durchschnittswert war aber doch ein wesentlich niedrigerer. Immerhin haben diese Versuche dargetan, daß die menschliche Haut noch viele Stunden nach Eintritt des Todes einen regen Stoffwechsel aufweist.

Die anaeroben und aeroben Glykolyseversuche hatten bisher nur eine Milchsäurebildung aus Glucose dargetan. Es galt nun, zunächst einmal festzustellen, ob und in welchem Umfange die Haut imstande ist, auch aus anderen Kohlehydraten Milchsäure zu bilden, ob sich hier Unterschiede ergeben zwischen Haut von Stoffwechselgesunden und Stoffwechselkranken, und ob die Gegenwart von Insulin auf die Milchsäurebildung von Einfluß ist. Sodann sollte geprüft werden, ob die Haut unter dem Einfluß verschiedener Strahlenarten in bezug auf ihr Milchsäurebildungsvermögen eine Umstimmung erfährt.

I.

Zunächst wurde das Milchsäurebildungsvermögen studiert an Leichenhaut, die von stoffwechselnormalen Individuen stammte. Das Material erhielten wir in der Mehrzahl der Fälle 4 bis 6 Stunden nach Eintritt des Todes. Meist wurde die Haut aus der Rückenpartie zur Untersuchung genommen. Sie wurde sorgfältig von allem subkutanen Fett befreit und dann folgendermaßen verarbeitet:

Zunächst wurde sie mit der Schere in möglichst kleine Stückchen geschnitten, in Portionen zu 5,0 g abgewogen und jede Portion für sich in der Reibeschale unter Zuhilfenahme von Glassplittern und unter sukzessivem Zusatz der neunfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einem möglichst homogenen Brei verarbeitet. Hierauf wurde besondere Sorgfalt verwandt, da, wie wir uns überzeugt hatten, nur so ein gleichmäßiges Arbeiten in den einzelnen Portionen garantiert war. Sollte die Wirkung eines Kohlehydrats auf die Milchsäurebildung untersucht werden, so wurde vor dem Verreiben in einem aliquoten Teil der Kochsalzlösung 0,5 g der betreffenden Zuckerart gelöst. Hierzu kamen 5,0 ccm eines Phosphatpuffergemischs ($p_H = 7{,}0$) und 0,2 g Optochin. basicum. Danach kamen die einzelnen Portionen auf 24 Stunden in den Brutschrank, wurden nach Ablauf der Frist scharf zentrifugiert und 30 ccm der überstehenden Flüssigkeit für die quantitative Milchsäurebestimmung weiter verarbeitet. Zu dem Zwecke wurde die Lösung kurz aufgekocht, nach dem Abkühlen in Anlehnung an die Vorschrift von *Folin* mit 4,0 ccm woframsaurem Natrium + 6,0 ccm $^2/_3$ n H_2SO_4 versetzt, geschüttelt und filtriert. 25 ccm des eiweißfreien Filtrats wurden dann in einem 50-ccm-Meßkölbchen zur Entfernung des Zuckers nach *Salkowski-Clausen* nach vorherigem Neutralisieren

mit Kupfersulfat und Kalkmilch behandelt und nach halbstündigem Stehen filtriert. Die Prüfung auf Zuckerfreiheit geschah mit der *Molisch*-schen α-Naphtholreaktion und fiel in den Portionen mit Glucose, Glykogen, Galaktose und Lactose meist positiv aus, bei Gegenwart von Lävulose und Saccharose dagegen fast immer negativ. In diesem Falle wurde dann in einem aliquoten Teil des Filtrats die Entzuckerung in der gleichen Weise wiederholt, mit dem Erfolg, daß nunmehr sämtlicher Zucker ausgefällt war. Mit 10,0 ccm des eiweiß- und zuckerfreien Filtrats wurde dann die quantitative Bestimmung der Milchsäure nach *Fürth-Charnass* unter Berücksichtigung der Vorschriften von *Hirsch-Kaufmann* und von *Meyerhof* ausgeführt.

Auf diese Weise wurde die Milchsäurebildung der Leichenhaut von Stoffwechselgesunden in Gegenwart von Glucose, Galaktose, Lävulose, Lactose, Saccharose und Glykogen untersucht.

In der Tabelle I teile ich von den angestellten Versuchen nur drei mit. Die aufgeführten Zahlen sind Mittelwerte aus gut übereinstimmenden Doppelanalysen.

Tabelle I.

Zuckerart	Versuch I mg Milchsäure		Versuch II mg Milchsäure		Versuch III mg Milchsäure	
	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.
—	7,612	152	9,105	183	6,45	129
Glucose	9,05	181	9,70	194	11,85	237
Galaktose . . .	9,105	183	8,60	172	7,55	151
Lävulose . . .	15,2	304	17,55	351	13,50	270
Lactose	—	—	—	—	7,00	140
Saccharose . .	—	—	—	—	9,70	194
Glykogen . . .	—	—	8,65	173	10,25	205

Aus den Zahlen geht hervor, daß Leichenhaut befähigt ist, unter günstigen Wirkungsbedingungen schon ohne einen besonderen Zusatz Milchsäure zu bilden. Gegenwart von Glucose führt mitunter zu einer kräftigen Milchsäuresteigerung, bisweilen ist sie kaum merklich. Das hängt vermutlich im wesentlichen mit der Lebensfähigkeit des zum Versuch verwandten Materials zusammen. Galaktose liefert meist weniger Milchsäure als Glucose. Am wirksamsten ist Lävulose; sie hat sich stets als der beste Milchsäurebildner erwiesen. Lactose liefert nur sehr wenig Milchsäure, Saccharose wesentlich mehr. Glykogen war in einem Falle gar nicht angegriffen worden, in einem anderen Falle lieferte sie beträchtliche Milchsäuremengen, doch weniger als Glucose.

Die Ergebnisse beziehen sich ausschließlich auf Leichenhaut und können natürlich keinen Anspruch darauf machen, uns ein richtiges Bild zu geben von dem wahren Umfang der Milchsäurebildung in der lebenden Haut. Denn es ist klar, daß nach dem Eintritt des Todes die

Vitalität aller Zellen leidet, und daß auch die Hautzellen diesem Gesetz unterworfen sind. Nur so erklärt sich z. B., daß in Versuch 2 die Milchsäurebildung aus Glucose nur eine ganz minimale war und Glykogen überhaupt nicht angegriffen wurde. Immerhin haben die Versuche das eine mit Sicherheit erwiesen, daß die Lävulose der bei weitem beste Milchsäurebildner ist.

Deshalb war es von großer Wichtigkeit, die Versuche mit lebensfrischer menschlicher Haut zu wiederholen. Solche stand uns zur Verfügung bei Beinamputationen, die des öfteren auf der chirurgischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses vorgenommen werden mußten. Herrn Prof. *Mühsam* und Herrn Prof. *Unger* sind wir für die Überlassung des Materials sehr dankbar. Die Haut entnahmen wir natürlich nur solchen Partien des Gliedes, die noch ein vollkommen normales Aussehen boten. Die Verarbeitung und Versuchsanordnung war genau die gleiche wie oben beschrieben. Die Resultate von drei Versuchen geben wir in Tabelle II wieder.

Tabelle II.

Zuckerart	Versuch I mg Milchsäure		Versuch II mg Milchsäure		Versuch III mg Milchsäure	
	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.
—	2,70	54	1,90	38	3,50	70
Glucose	5,40	108	7,55	151	8,80	176
Galaktose . . .	3,60	72	6,75	135	—	—
Lävulose . . .	6,45	129	13,20	264	12,85	257
Lactose	2,45	49	4,50	81	—	—
Saccharose . .	5,65	113	6,95	139	7,00	140
Glykogen . . .	3,50	70	7,00	140	6,40	128

Wenn wir zunächst von den Kontrollen absehen, so haben sämtliche Versuche übereinstimmend ergeben, daß die lebensfrische Haut weit ausgiebiger aus den ihr zur Verfügung stehenden Kohlehydraten Milchsäure bildet als die von Leichen. Das tritt besonders deutlich zutage in den Versuchen mit Glucose und Lävulose. Letztere erwies sich auch hier wieder als der beste Milchsäurebildner. Dann folgt Glucose, dann Saccharose, dann erst Glykogen. Am schwächsten erwiesen sich Galaktose und Lactose, wie wir das auch bei der Leichenhaut gesehen haben. In einem Punkte scheinen die Versuche mit lebender Haut in Widerspruch mit denen von Leichenhaut zu stehen, insofern, als die lebensfrische Haut ohne Zusatz (Kontrolle) weit weniger Milchsäure produziert als Leichenhaut, obwohl sie doch nach obigen Versuchen ein weit stärkeres milchsäurebildendes Vermögen besitzt als letztere. Dieser Widerspruch war nur so zu erklären, daß entweder die Muttersubstanz der Milchsäure in der lebensfrischen Haut in weit geringerer Menge vorhanden war als

in der Leichenhaut — was nicht gerade sehr wahrscheinlich war — oder daß die Leichenhaut schon bei Beginn des Versuchs präformiert eine beträchtliche Milchsäuremenge enthielt. In der Tat zeigte sich, so oft wir Leichenhaut direkt auf Milchsäure verarbeiteten, daß diese mitunter sehr viel Milchsäure enthielt — in einem Falle 102 mg-Proz. —, je nachdem der Eintritt des Todes wenige oder viele Stunden zurücklag, während in der lebensfrischen Haut sich höchstens Spuren von Milchsäure nachweisen ließen.

Die Haut, die wir bisher untersucht hatten, stammte von stoffwechselgesunden Individuen. Es interessierte nun, ob Störungen im Kohlehydratstoffwechsel auch von Einfluß sind auf die Milchsäurebildung in der Haut. Zu dem Zwecke untersuchte ich die Haut von Individuen, die infolge Diabetes ad exitum gekommen waren.

Die Methodik der Verarbeitung und der Milchsäurebestimmung war die gleiche wie in den früheren Versuchen. Deshalb sei nur kurz das Resultat in Tabelle III mitgeteilt.

Tabelle III.

Zuckerart	Versuch I mg Milchsäure		Versuch II mg Milchsäure		Versuch III mg Milchsäure	
	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.
—	2,95	59	4,85	97	6,40	128
Glucose	10,25	205	12,05	241	10,50	210
Glykogen . . .	9,15	183	9,45	189	7,35	147
Lävulose . . .	11,60	232	14,55	291	11,70	234
Saccharose . .	8,10	162	9,15	183	10,50	210

Man sieht, daß die Milchsäuremengen, verglichen mit stoffwechselgesunder Haut (Tabelle I), um nichts zurückbleiben: Die Haut des an Diabetes Verstorbenen ist in demselben Ausmaß befähigt, Milchsäure aus verschiedenen Kohlehydraten zu bilden wie die Haut eines an Magenblutung oder an Pneumonie Verstorbenen. Auch hier übertrifft die Lävulose in allen Fällen die Glucose in der Milchsäurebildung, und ebenso bleibt auch hier das Glykogen hinter der Wirkung der Glucose zurück. Auch das Polysaccharid Saccharose wird von der diabetischen Haut in beträchtlicher Menge zu Milchsäure abgebaut.

Aus dem günstigen Ausfall der Versuche mit Diabetikerhaut könnte man deduktiv schließen, daß Insulin ohne Einfluß auf die Milchsäurebildung der Haut ist. Darauf weisen außerdem auch schon Versuche von *Wohlgemuth* und *Klopstock* hin, die keine Beeinflussung der anaeroben Glykolyse durch Insulin feststellen konnten. Immerhin schien es uns doch wünschenswert, in besonderen Versuchen zu prüfen,

ob unsere Annahme zu Recht bestand. Hierzu verwandten wir lebensfrische Haut sowohl wie Leichenhaut, wie auch Haut von Diabetikern.

Die Versuche wurden in der üblichen Weise angestellt unter Zugabe von 2,0 ccm Insulin (*Kahlbaum*) mit den erforderlichen Kontrollen. Hier beschränkten wir uns ausschließlich auf Versuche mit Glucose und Lävulose als den besten Milchsäurebildnern. Das Resultat ist aus Tabelle IV ersichtlich.

Tabelle IV.

Zuckerart	Stoffwechselgesunde Haut						Haut von Diabetikern			
	von Leichen		lebensfrisch							
	Versuch I mg Milchsäure		Versuch I mg Milchsäure		Versuch II mg Milchsäure		Versuch I mg Milchsäure		Versuch II mg Milchsäure	
	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.	pro 5 g Haut	Proz.
—	4,30	86	1,85	37	3,50	70	2,95	59	6,40	128
Glucose	8,35	167	7,55	151	8,75	175	10,25	205	10,50	210
Glucose + Insulin .	10,80	216	8,10	162	9,35	187	12,65	253	12,85	257
Lävulose	10,25	205	—	—	—	—	11,85	237	11,70	234
Lävulose + Insulin	11,30	226	—	—	—	—	11,60	232	14,00	280

Hiernach ergibt sich, daß die Milchsäurebildung in der lebensfrischen Haut durch Insulin so gut wie unbeeinflußt geblieben ist, die Differenzen sind in beiden Versuchen so klein, daß von einer ins Gewicht fallenden Mehrproduktion nicht gesprochen werden kann. Anders bei der Leichenhaut. Hier sehen wir besonders in dem Versuch mit Glucose bei Gegenwart von Insulin die Milchsäuremenge mächtig ansteigen; weniger stark ist der Einfluß in dem Lävuloseversuch. Und endlich ist bei der Diabetikerhaut in beiden Versuchen mit Glucose unter dem Einfluß von Insulin weit mehr Milchsäure gebildet worden als in den entsprechenden Kontrollen. Bei Lävulose hat sich nur in einem Versuch eine Mehrproduktion feststellen lassen. Somit muß man also doch dem Insulin einen Einfluß auf die Milchsäurebildung zusprechen. Daß dieser in der lebensfrischen Haut nicht zum Ausdruck kommt, beruht aller Wahrscheinlichkeit nach darauf, daß die lebensfrischen Hautzellen noch über einen so reichlichen Insulingehalt verfügen, daß ein weiterer Zusatz die Wirkung nicht mehr verstärkt. Das mag auch der Grund sein, weshalb die oben zitierten anaeroben Glykolyseversuche mit überlebender Meerschweinchenhaut keine fördernde Wirkung des Insulins haben erkennen lassen.

II.

Weiter haben wir unsere Versuche auf lebensfrische Tierhaut ausgedehnt, und zwar interessierte uns einmal, den Umfang der Milchsäurebildung in der tierischen Haut unter den gleichen Bedingungen kennen

zulernen, sodann aber auch festzustellen, ob diese Eigenschaft der Haut durch verschiedene Lichtarten in irgend einer Richtung beeinflußt werden kann. Denn es war früher gezeigt worden[1]), daß der Fermentgehalt der Haut unter der Einwirkung von Strahlen nicht unbeträchtliche Änderungen erfahren kann. So hatte unter dem Einfluß von natürlichem Sonnenlicht und von künstlicher Höhensonne die Diastase erheblich abgenommen, die Phenoloxydase beträchtlich zugenommen; bei Bestrahlung mit Röntgenstrahlen war die Diastase fast unbeeinflußt geblieben, die Phenoloxydase wesentlich schwächer geworden. Es galt nun zu ermitteln, ob und inwieweit die Tätigkeit der Milchsäurebildung der Haut durch Bestrahlungen verschiedener Art eine Änderung erfährt.

Als Versuchstiere dienten uns Meerschweinchen von annähernd gleichem Gewicht. Ein Teil diente als Kontrolltiere, die anderen wurden der Einwirkung von Sonnenstrahlen, Höhensonne und Röntgenstrahlen ausgesetzt.

Zunächst sei über die Kontrolltiere kurz berichtet.

Zu jedem Versuch wurden mindestens zwei Tiere verwandt. Da für die Bestrahlung nur die Rückenpartie der Tiere in Betracht kam, so wurde auch von den Kontrolltieren, um möglichst gleiche Verhältnisse zu haben, nur die Rückenhaut verarbeitet.

Zu dem Zweck wurden die Tiere durch Entbluten getötet, die Rückenhaut von den Haaren gründlichst befreit, dann die Haut von der unterliegenden Muskelschicht vorsichtig abgetrennt und alle Sorgfalt darauf verwandt, alle der Innenfläche noch fest anhaftenden kleinen Muskelfasern abzutragen. Hiernach wurde die Haut mit der Schere so fein wie irgend möglich zerkleinert und in Portionen zu 5 g in der Reibeschale in der oben beschriebenen Weise weiter verarbeitet. Das Verreiben der Haut mit Glassplittern und physiologischer Kochsalzlösung zu einem homogenen Brei machte hier viel größere Schwierigkeit als bei der menschlichen Haut, offenbar, weil die Meerschweinchenhaut sehr reich an elastischen Fasern ist.

Von Kohlehydraten untersuchten wir nur Glucose, Lävulose und Glykogen. Anfänglich hatten wir auch noch Versuche mit Galaktose, Laktose und Saccharose angestellt, so daß zusammen mit der Kontrolle sieben Portionen vorbereitet werden mußten. Aber da das äußerst mühselig war und außerdem jeder Versuch dann mindestens drei Tiere erfordert hätte, begnügten wir uns mit dem Ansatz von nur vier Portionen und berücksichtigten nur die drei erstgenannten Zuckerarten.

Die Versuchsdauer betrug auch hier 24 Stunden. Die weitere Verarbeitung geschah in der oben beschriebenen Weise.

Die Resultate von nur drei Versuchen gebe ich in Tabelle V wieder. Der besseren Übersicht wegen sind nur die Milchsäurewerte für 100 g Haut in Milligrammen aufgeführt und daneben stehend die Differenz zwischen Kontrolle und Zuckerversuch.

[1]) *J. Wohlgemuth* und *Sugihara*, diese Zeitschr. **163**, 260, 1925.

Tabelle V.

Zuckerart	Kontrolltiere						Durchschn. Differenz
	I		II		III		
	mg-Proz.	Differenz	mg-Proz.	Differenz	mg-Proz.	Differenz	
—	165	—	162	—	151	—	—
Glucose	232	67	199	37	216	65	**54**
Lävulose	270	105	253	91	280	129	**108**
Glykogen	—	—	183	21	183	32	**27**

Zunächst sehen wir, daß die lebensfrische Meerschweinchenhaut an sich schon recht beträchtliche Milchsäuremengen zu bilden vermag; sie sind etwa dreimal so groß, wie die von frischer Menschenhaut produzierten. Dagegen sind die aus Glucose gebildeten Milchsäurequantitäten nicht so erheblich, sie betragen hier höchstens 67 mg, während wir bei der Menschenhaut Differenzen bis 114 mg begegnen. Auch die Lävulose erweist sich hier als bester Milchsäurebildner, während Glykogen hinter beiden Zuckern zurückbleibt.

Was nun die bestrahlten Tiere anbetrifft, so wurden sie zunächst sämtlich am Rücken von den Haaren befreit und dann der Bestrahlung unterworfen. Die Sonnentiere wurden durchschnittlich 8 bis 10 Tage hintereinander mehrere Stunden kräftiger Sonnenstrahlung ausgesetzt, am Tage des Versuchs noch 2 Stunden in der Sonne gehalten und dann durch Entbluten getötet.

Die Höhensonnentiere[1]) wurden 4 bis 6 Tage hintereinander je ½ Stunde lang in einem Abstand von etwa 40 cm den Strahlen der Quecksilberlampe ausgesetzt und dann getötet.

Die Röntgentiere[1]) wurden einmal mit einer doppelten Hauterythemdosis bestrahlt, das eine (I) nach 4 Tagen, das andere (II) nach 6 Tagen entblutet.

Die Versuchsanordnung und die analytische Verarbeitung geschah in der oben beschriebenen Weise.

Die Resultate sind in den Tabellen VI, VII, VIII zusammengestellt.

Tabelle VI.

Zuckerart	Sonnentiere						Durchschn. Differenz
	I		II		III		
	mg-Proz.	Differenz	mg-Proz.	Differenz	mg-Proz.	Differenz	
—	151	—	102	—	140	—	—
Glucose	178	27	140	38	172	32	**32**
Lävulose	243	92	253?	151?	216	76	**84**
Glykogen	156	5	118	16	—	—	**10**

[1]) Den Herren Prof. *Levy-Dorn* und *Laqueur* sind wir für die Hilfeleistung bei den Bestrahlungen sehr dankbar.

Tabelle VII.

Zuckerart	Höhensonnentiere						Durchschnittsdifferenz
	I Milchsäure		II Milchsäure		III Milchsäure		
	mg-Proz.	Differenz	mg-Proz.	Differenz	mg-Proz.	Differenz	
—	167	—	183	—	194	—	—
Glucose	183	16	229	46	216	22	**28**
Lävulose	253	86	264	81	270	76	**81**
Glykogen	—	—	188	5	210	16	**10**

Tabelle VIII.

Zuckerart	Röntgentiere				Durchschnittsdifferenz
	I Milchsäure		II Milchsäure		
	mg-Proz.	Differenz	mg-Proz.	Differenz	
—	178	—	198	—	—
Glucose	183	5	205	7	**6**
Lävulose	232	54	253	55	**54,5**

Aus ihnen ergibt sich übereinstimmend zunächst, daß die spontane Milchsäurebildung der Haut unverändert geblieben ist. Die Werte sind in allen Kontrollversuchen die gleichen wie bei den Kontrollen der Normaltiere. Im Gegensatz dazu hat aber die Bildung der Milchsäure aus Kohlehydraten eine Schädigung erfahren. Dieselbe ist noch nicht sehr groß bei den Sonnentieren (Tabelle VI), wesentlich stärker schon bei den Höhensonnentieren (Tabelle VII) und ganz eklatant bei den Röntgentieren (Tabelle VIII). Dabei hat sich der graduelle Unterschied zwischen den drei Zuckerarten nicht verschoben. Die Lävulose ist in allen drei Gruppen der beste, das Glykogen der schwächste Milchsäurebildner geblieben.

Die Tatsache, daß die Milchsäurebildung der Haut aus Kohlehydraten unter dem Einfluß verschiedener Strahlenarten eine Schwächung erfährt, erscheint uns recht bemerkenswert, wenn wir auch noch nicht übersehen können, wie diese Umstimmung des physiologischen Stoffwechselgetriebes der Hautzelle sich weiter auswirkt. Um hier Klarheit zu bekommen, bedarf es noch weiterer Untersuchungen im Kohlehydratstoffwechsel der Haut. Wir denken dabei speziell an die Verfolgung des oxydativen Zuckerabbaues in der Haut, der, wie *Wohlgemuth* und *Nakamura* gezeigt haben, von nicht unbeträchtlichem Ausmaß ist,

besonders im Hinblick darauf, daß unter dem Einfluß von Sonnenlicht und Höhensonne die Phenoloxydase der Haut in ihrer Wirkung erheblich verstärkt ist. Denn man könnte sich vorstellen, daß von denselben Strahlenarten noch andere oxydative Prozesse in der Hautzelle einen Impuls erfahren, daß vielleicht dieselben Strahlenarten, die eine Schädigung des Zuckerabbaues zu Milchsäure bedingen, eine Förderung des oxydativen Zuckerabbaues herbeiführen. Über derartige Versuche soll in einer späteren Mitteilung berichtet werden.

Zum Schluß sei noch auf eine Tatsache die Aufmerksamkeit gelenkt, die bei allen Versuchen, sei es mit lebender Menschenhaut oder Leichenhaut, sei es mit stoffwechselgesunder oder stoffwechselkranker Menschenhaut, sei es mit normaler oder durch irgend eine Strahlenart geschädigter tierischer Haut, immer wieder in die Erscheinung tritt, nämlich die besonders starke Milchsäurebildung in Gegenwart von Lävulose. Hiernach scheint die Lävulose im Kohlehydratstoffwechsel der Haut eine besonders bevorzugte Stellung einzunehmen. Daß sie auch sonst im Zuckerstoffwechsel eine ganz besondere Rolle spielt, ist aus verschiedenen Tatsachen bekannt. So wird z. B. vom Diabetiker die Lävulose viel besser ausgenutzt als die Glucose. Die physiologisch so wichtige Hexosephosphorsäure, das Lactacidogen von *Embden*, hat sich als ein Lävulosederivat erwiesen. Hefe vergärt Lävulose viel schneller als Glucose; Zusatz von Spuren von Lävulose genügen schon, um die Vergärungsgeschwindigkeit der Glucose durch Hefe enorm zu steigern. Mit allen diesen durch das Experiment gesicherten Tatsachen steht der von uns erhobene Befund der besonders ausgiebigen Bildung von Milchsäure aus Lävulose durch die Haut in gutem Einklang.

Zusammenfassung.

1. Leichenhaut ist befähigt, ohne und mit Zusatz von Kohlehydraten Milchsäure zu bilden.

2. Noch weit stärker ist die Milchsäurebildung durch ganz frische Menschenhaut.

3. Auch die Haut von schweren Diabetikern ist imstande, Milchsäure aus Kohlehydraten zu produzieren in gleichem Ausmaß, wie die Haut von Stoffwechselgesunden.

4. Insulin ist ohne Einfluß auf die Milchsäurebildung der lebensfrischen Haut; dagegen fördert Insulin in Gegenwart von Kohlehydraten die Milchsäurebildung der Leichenhaut und der Haut von Diabetikern.

5. Die Haut vom Meerschweinchen besitzt gleichfalls starkes Milchsäurebildungsvermögen.

6. Durch Bestrahlung mit natürlichem Sonnenlicht wird diese Fähigkeit in geringem Maße geschädigt, weit mehr noch durch künstliche Höhensonne; am allerstärksten ist die Schädigung durch Röntgenstrahlen.

7. Von den untersuchten Kohlehydraten hat sich die Lävulose als der bei weitem beste Milchsäurebildner erwiesen. Danach scheint die Lävulose eine besonders bevorzugte Stellung im Kohlehydratstoffwechsel der Haut einzunehmen.

Diese Arbeit ist aus Mitteln bestritten, für die wir der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft zu besonderem Dank verpflichtet sind.

Über die Beeinflussung des Harnquotienten C:N durch die Nahrungszusammensetzung unter besonderer Berücksichtigung der Aminosäuren.

Von

A. Bickel und **I. Remesow.**

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 25. März 1927.)

Daß die Nahrungszusammensetzung in dem Sinne einen Einfluß auf die Lage des Harnquotienten C : N hat, daß mit dem Kohlehydratreichtum der Nahrung dieser Quotient ansteigt, ist seit langem bekannt. Besonders lehrreich ist hierzu der Versuch, den *Wada*[1]) auf Veranlassung des einen von uns (*Bickel*) machte, und der darin gipfelt, daß man einem Kaninchen, dessen Durchschnittsquotient bei qualitativ bestimmter Nahrung bekannt ist, eine perorale Traubenzuckerzulage gibt. Dann erhöht sich der Quotient sofort beträchtlich bei ungefähr unverändert bleibendem absoluten C-Gehalt, aber sinkendem absoluten N-Gehalt des Harns.

Bei weiteren Studien über die Beeinflußbarkeit des Quotienten durch die Zusammensetzung der Nahrung wollten wir die Wirkung der Aminosäuren untersuchen. Da wir aber zurzeit nicht über die Mittel verfügten, um uns chemisch reine Aminosäuren in genügender Menge beschaffen und damit die Tiere ernähren zu können, beschlossen wir, einen vorläufigen Versuch mit einem der im Handel erhältlichen Eiweißhydrolysate anzustellen. Wir wählten zu diesem Zwecke die *Maggi*sche Suppenwürze, die ein derartiges Gemisch von Aminosäuren ist, und von der wir auch genügend zuverlässige Analysen besitzen, da sie u. a. von Professor *Hahn* im Hygienischen Institut der hiesigen Universität chemisch und biologisch fortlaufend kontrolliert wird. Zudem hatten

[1]) *Wada*, diese Zeitschr. **171**, H. 1/3, 1926.

der eine von uns (*Bickel*) u. a.[1]) sowohl am *Pawlow*schen Magenblindsackhunde als auch am erwachsenen Menschen gezeigt, daß *Maggis* Würze intensiv und nachhaltig die Magensekretion auslöst bzw. steigert, und zwar sowohl den „Appetitsaft" als auch den „chemischen Saft" (nach *Pawlow*), und daß diese Wirkung in der Tat auf die auch von *E. Salkowski*[2]) in *Maggis* Würze festgestellten großen Mengen von Aminosäuren zurückzuführen ist. In späteren Versuchen hatte der eine von uns nachgewiesen, daß die starke safttreibende Wirkung der *Maggi*schen Würze, die seither klinisch vielfach bestätigt und ausgewertet worden ist[3]) [Förderung der Verdauung und damit der Resorption, erhebliche Gewichtszunahmen[3])], nicht nur bei der oralen und intragastralen Gabe, sondern auch — unter Ausschaltung der Nervenleitung — bei der subkutanen und intravenösen Zufuhr eintritt, somit auf den erheblichen Gehalt an Sekretinstoffen zurückzuführen ist.

Das Ergebnis unseres jetzigen ersten Versuchs über die Lage des Harnquotienten C : N bei der Aminosäuregabe mit der *Maggi*schen Würze war aber so überraschend, daß wir sofort noch drei andere Versuche, die in gleicher Weise angeordnet waren, an jenen ersten anschlossen, um es zu sichern. In unserer vorliegenden Arbeit wollen wir kurz über diese Untersuchung berichten.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Zwei Hunde wurden mit einer auf ihr Körpergewicht berechneten, kalorisch suffizienten, gemischten Kost, die auch einen genügenden Mineralstoff- und Vitamingehalt hatte, ernährt. Das Eiweiß in dieser Kost war Weizeneiweiß, das wir von der chemischen Fabrik Dr. Klopfer, Dresden-Leubnitz, bezogen hatten. Die 24stündigen Harnmengen wurden bei jedem Hunde gesammelt und gemessen, und darin wurde der Stickstoff nach *Kjeldahl* und der Kohlenstoff nach der Methode von *Tangl-Kereszty* mit der Modifikation von *Gomez*[4]) bestimmt. Der Kot wurde periodenweise gesammelt, getrocknet und nach *Poda* präpariert. In dem Kote wurde der N- und C-Gehalt bestimmt. Für die einzelnen Perioden des Versuchs wurden die durchschnittlichen täglichen Harn-N- und Harn-C-Werte und die durchschnittliche Lage des Harnquotienten C : N durch Addition aller Harn-C- und Harn-N-Werte einer Periode und Division dieser Summen ermittelt.

In einer Vorperiode bekamen die Tiere lediglich das oben genannte Futter. Es hatte folgende Zusammensetzung:

---

[1]) *Bickel*, Deutsch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 33; *derselbe*, Arbeiten aus dem Patholog. Institut zu Berlin, 1906; *Rheinboldt*, Zeitschr. f. physikal. u. diät. Therap. 1906, H. 1.

[2]) *Bickel*, Intern. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstörungen **5**, H. 1, 1914.

[3]) *Schroeder*, Deutsch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 32; *Varges*, *Rabenhorst* und *Dufeldt*, Deutsch. militärärztl. Zeitschr. 1909, H. 19.

[4]) *Gomez*, diese Zeitschr. **167**, H. 4/6, 1926.

	Hund 1 etwa 9600—9700 g Körpergewicht g	Hund 2 etwa 6300 g Körpergewicht g
Weizeneiweiß	45,0	45,0
Reis	80,0	40,0
Frische Butter	20,0	15,0
Frische Hefe	9,0	6,0
Zellsalzgemisch	1,5	1,0
Kochsalz	1,5	1,0
N-Gehalt der Nahrung . .	7,2094 g N	6,6510 g N

Dieses Futter wurde auch in der Zwischen- und Nachperiode gegeben. An die Vorperiode und an die Zwischenperiode aber schloß sich je eine Hauptperiode an, in der die Tiere 2 g Weizeneiweiß weniger erhielten, dafür aber 9,4 g *Maggi*sche Suppenwürze bekamen. Der N-Gehalt von 2 g Weizeneiweiß entsprach genau demjenigen von 9,4 g *Maggi*scher Suppenwürze. Weil nun ferner in 9,4 g *Maggi*scher Würze fast genau 1,5 g NaCl sind, so wurden in den *Maggi*-Perioden die Kochsalzzulagen zur Nahrung fortgelassen.

Auf diese Weise war erreicht worden, daß der N-Gehalt der Nahrung in allen Perioden bei einem Tiere gleich war, und daß auch im Kochsalzgehalt der Nahrung jedenfalls keine gröberen Differenzen obwalteten.

In der Tabelle I sind die Ergebnisse aller Versuche zusammengestellt.

Bei beiden Hunden stieg immer in den Hauptperioden, also unter dem Einfluß der Gabe einer kleinen Menge der *Maggi*schen Suppenwürze die C-Ausscheidung durch den Harn in ihren absoluten Werten deutlich an, um nach Aussetzen der Würzegabe sofort oder spätestens nach 1 bis 2 Tagen wieder auf den ungefähren Wert der Vorperiode zurückzukehren. Die N-Ausscheidung durch den Harn blieb bei dem Hunde 1 in ihren absoluten Werten in allen Perioden auf annähernd der gleichen Höhe, beim Hunde 2 stieg sie in der ersten Maggiperiode etwas an, blieb aber dann durch alle folgenden Perioden auf dieser einmal erreichten Höhe annähernd stehen.

Die N-Bilanz, die bei beiden Hunden schon in den Vorperioden mit + 1,58 bzw. + 1,35 g N stark positiv war, wurde bei dem Hunde 1 in den Hauptperioden noch ein wenig stärker positiv, bei dem Hunde 2 schwächte sie sich in der ersten Hauptperiode ein wenig ab, nahm aber dafür in der zweiten Hauptperiode zu und lag hier auch wesentlich über dem Werte der Nachperiode.

Die *Eiweißoxydation* zeigte folgendes Verhalten: Wenn man den Prozentsatz berechnet, den der Harn-N in jeder Periode vom resorbierten Nahrungs-N beträgt, dann findet man nach Maßgabe der Tabelle 1,

Tabelle I. Hund 1.

	Vorperiode 12 Tage	I. Hauptperiode 7 Tage	Zwischenperiode *) 11 Tage	II. Hauptperiode 8 Tage	Nachperiode 7 Tage
Harn-C pro Periode . .	36,4126	46,3404	α) 40,5228 β) 23,8414	34,1800	18,1823
Harn-C pro Tag	3,0344	6,6206	α) 3,6839 β) 2,9801	4,2725	2,5975
Harn-N pro Periode . .	63,5128	37,8775	α) 58,2144 β) 41,4995	39,8182	35,2775
Harn-N pro Tag . . .	5,2927	5,4110	α) 5,2922 β) 5,1874	4,9773	5,0394
C : N i. Periodendurchschn.	0,5730	1,2230	α) 0,6960 β) 0,5740	0,8580	0,5150
Kot-C pro Periode . . .	13,4400	2,4991	7,0811	5,1328	7,0101
Kot-C pro Tag	1,1200	0,3571	0,6437	0,6416	1,0014
Kot-N pro Periode . . .	4,1020	0,8203	3,8402	0,9056	2,5643
Kot-N pro Tag	0,3418	0,1172	0,3491	0,1132	0,3663
Nahrungs-N pro Tag . .	7,2094	7,2094	7,2094	7,2094	7,2094
N-Bilanz pro Tag . . .	+ 1,5748	+ 1,6811	+ 1,5681	+ 2,1189	+ 1,8034
Eiweißoxydation **) . .	77,6 %	76,2 %	77,1 %	70,1 %	73,6 %

Hund 2.

	Vorperiode 9 Tage	I. Hauptperiode 11 Tage	Zwischenperiode 9 Tage	II. Hauptperiode 8 Tage	Nachperiode 7 Tage
Harn-C pro Periode . .	24,8118	43,3756	28,3762	40,9892	19,3952
Harn-C pro Tag	2,7568	3,9432	3,1529	5,1236	2,7707
Harn-N pro Periode . .	43,7753	63,5015	50,5911	43,3925	39,0645
Harn-N pro Tag . . .	4,8639	5,7728	5,6212	5,4241	5,5806
C : N i. Periodendurchschn.	0,5660	0,6830	0,5610	0,9440	0,4960
Kot-C pro Periode . . .	5,8906	3,4191	2,4002	5,4014	8,1008
Kot-C pro Tag	0,6545	0,3108	0,2667	0,6751	1,1572
Kot-N pro Periode . . .	3,8977	0,9550	0,7189	2,0731	3,1126
Kot-N pro Tag	0,4331	0,0868	0,0799	0,2591	0,4446
Nahrungs-N pro Tag . .	6,6510	6,6510	6,6510	6,6510	6,6510
N-Bilanz pro Tag . . .	+ 1,3540	+ 0,7913	+ 0,9499	+ 0,9678	+ 0,6257
Eiweißoxydation	78,2 %	87,9 %	85,5 %	84,8 %	89,9 %

*) In den ersten 3 Tagen der 11tägigen Zwischenperiode bei dem Hund 1 war noch als Nachwirkung der I. Hauptperiode die CO_2-Ausscheidung erhöht. Die für die Zwischenperiode charakteristischen Mittelwerte erhält man daher, wenn man die ersten 3 Tage nicht mit berücksichtigt. Unter „α" sind alle 11 Tage, unter „β" nur die letzten 8 Tage dieser Periode berechnet. Die Werte ohne „α" oder „β" als Vorzeichen beziehen sich auf 11 Tage.

**) Der Wert für die Eiweißoxydation ist so berechnet, daß ermittelt wurde, wieviel Prozent der Harn-N von dem resorbierten N der Nahrung beträgt. Diese Prozentzahl gibt dann die Größe der intermediären Eiweißoxydation an, bezogen auf das resorbierte Nahrungseiweiß.

Tabelle II.

1 g Weizeneiweiß	enthält =	0,13394 g	Stickstoff (N)
1 g Reis	„ =	0,01232 g	„ (N)
1 g frische Hefe	„ =	0,02176 g	„ (N)

Zusammensetzung des Zellsalzgemisches:

Calcium phosphoricum .	= 100,0 g	Ferrum citricum . . .	= 30,0 g
Magnesium citricum . .	= 100,0 g	Jodum purum	= 0,05 g
Kalium chloratum . .	= 15,0 g	Kalium jodatum . . .	= 0,10 g

Tabelle
Hund

Datum	Körpergewicht kg	Harnmenge ccm	Harn C g	Harn N g	C : N	Harn-C g	Harn-N g	C : N
						pro Tag im Periodendurchschnitt		
4. I.	9,850	640	3,9240	5,2005	0,741			
5. I.	9,850	880	3,6452	5,1781	0,708			
6. I.	9,700	750	4,5960	6,0639	0,742			
7. I.	9,960	655	3,2579	5,5243	0,589			
8. I.	9,900	610	3,4167	4,8542	0,703			
9. I.	9,930	605	1,3521	4,8992	0,276			
10. I.	9,900	735	3,3991	5,6890	0,598	3,0344	5,2927	0,573
11. I.	9,800	965	1,3413	4,6237	0,290			
12. I.	9,890	735	2,1460	5,2534	0,408			
13. I.	9,980	850	3,1245	5,1262	0,607			
14. I.	9,750	995	3,2104	6,0786	0,530			
15. I.	9,800	870	3,0894	5,0217	0,615			
16. I.	9,750	655	4,9890	4,6801	1,066			
17. I.	9,700	790	6,7011	5,0912	1,316			
18. I.	9,750	840	8,3936	5,6870	1,475			
19. I.	9,830	850	7,4112	5,8087	1,275	6,6200	5,4110	**1,223**
20. I.	9,900	890	6,0210	5,7606	1,045			
21. I.	9,800	980	7,8344	6,4531	1,214			
22. I.	9,900	480	4,9901	4,3968	1,135			
23. I.	9,700	690	5,8908	5,1428	1,145			
24. I.	9,650	900	5,3210	5,5227	0,963			
25. I.	9,700	1060	5,4696	6,0494	0,900			
26. I.	9,650	745	3,5062	5,2187	0,673			
27. I.	9,850	585	2,8431	4,3615	0,651			
28. I.	9,800	580	2,9304	4,4520	0,658	3,6839	5,2922	0,696
29. I.	9,900	680	2,4340	4,5012	0,540			
30. I.	9,900	755	1,7516	4,9830	0,351			
31. I.	9,750	820	4,1607	5,8819	0,707			
1. II.	9,750	860	2,5020	5,5423	0,451			
2. II.	9,730	760	3,7134	6,5589	0,567			
3. II.	9,600	960	2,8830	3,7668	0,765			
4. II.	9,710	560	3,0256	4,4719	0,677			
5. II.	9,800	630	3,4272	4,9427	0,695			
6. II.	9,590	920	4,5448	5,7228	0,790			
7. II.	9,510	840	4,1802	4,2083	0,996	4,2725	4,9773	**0,858**
8. II.	9,500	980	5,4108	5,9323	0,912			
9. II.	9,550	890	5,0914	5,1717	0,984			
10. II.	9,600	840	5,6170	5,6017	1,002			
11. II.	9,500	500	4,0973	4,2001	0,972			
12. II.	9,600	880	2,8049	5,6441	0,491			
13. II.	9,650	760	2,0643	5,3754	0,384			
14. II.	9,570	720	2,6784	4,8217	0,555	2,5975	5,0394	0,515
15. II.	9,650	1000	2,2418	5,6040	0,400			
16. II.	9,600	860	2,1480	5,4001	0,397			
17. II.	9,600	590	2,1476	4,2321	0,506			

III.
1.

Kot			Kot-C g	Kot N g	Nahrungs-N pro Tag g	Eiweiß-oxydation %	N-Bilanz		Bemerkungen
Kotmenge g	C g	N g	pro Tag i. Perioden-durchschnitt				täglich	im Perioden-durchschnitt	
74,99	13,4401	4,1020	1,1290	0,3418	7,2094	77,6	+ 2,0089 + 2,0313 + 1,1455 + 1,6851 + 2,3552 + 2,3102 + 1,5204 + 2,5857 + 1,9560 + 2,0832 + 1,1308 + 2,1877	+ 1,5748	Vorperiode
16,03	2,4991	0,8203	0,3571	0,1172	7,2094	**76,2**	+ 2,5293 + 2,1182 + 1,5224 + 1,4007 + 1,4488 + 0,7557 + 2,9126	+ **1,6811**	Erste Hauptperiode
76,30	7,0811	3,8402	0,6437	0,3491	7,2094	77,1	+ 2,0666 + 1,6857 + 1,1600 + 1,9907 + 2,8479 + 2,7574 + 2,7082 + 2,2264 + 1,3275 + 1,6671 + 0,6595	+ 1,5681	Zwischenperiode
79,45	5,1328	0,9056	0,6416	0,1132	7,2094	**70,1**	+ 3,4426 + 2,7375 + 2,2667 + 1,4866 + 2,9011 + 1,2771 + 2,0377 + 1,6077	+ **2,1189**	Zweite Hauptperiode
39,53	7,0101	2,5643	1,0014	0,3663	7,2094	73,6	+ 3,0093 + 1,5653 + 1,8340 + 2,3877 + 1,6054 + 1,8093 + 2,9773	+ 1,8034	Nachperiode

Tabelle
Hund

Datum	Körpergewicht kg	Harnmenge ccm	Harn C g	Harn N g	C : N	Harn-C g	Harn-N g	C : N	
						pro Tag im Periodendurchschnitt			
16. I.	6,300	755	3,3415	5,6109	0,595				
17. I.	6,150	690	2,0192	4,7990	0,420				
18. I.	6,100	1020	2,6444	5,0179	0,526				
19. I.	6,210	710	3,3407	6,1211	0,545				
20. I.	6,250	865	2,4890	3,1734	0,771	2,7568	4,8639	0,566	
21. I.	6,300	630	3,5571	5,4500	0,650				
22. I.	6,270	765	2,9127	5,6000	0,520				
23. I.	6,170	610	3,3428	5,0189	0,665				
24. I.	6,350	480	1,1644	2,9841	0,390				
25. I.	6,400	640	2,4981	4,9315	0,506				
26. I.	6,380	730	3,4002	5,9940	0,568				
27. I.	6,400	675	3,2290	5,2779	0,611				
28. I.	6,400	765	6,0450	7,0524	0,858				
29. I.	6,400	700	4,9980	5,3589	0,930				
30. I.	6,550	710	4,9890	5,2918	0,941	3,9432	5,7728	**0,683**	1
31. I.	6,530	940	5,0232	5,1874	0,962				
1. II.	6,470	1000	3,0600	7,4813	0,409				
2. II.	6,600	620	3,3356	3,3876	0,987				
3. II.	6,400	860	3,4417	5,7110	0,602				
4. II.	6,500	960	3,3558	7,8277	0,428				
5. II.	6,500	740	3,9912	4,2550	0,939				
6. II.	6,480	750	3,9871	4,3140	0,930				
7. II.	6,400	850	2,9920	5,9508	0,503				
8. II.	6,600	425	2,2278	3,7760	0,589				
9. II.	6,400	960	3,1028	7,0157	0,443	3,1529	5,6212	0,561	17
10. II.	6,350	670	3,8766	6,9142	0,560				
11. II.	6,400	580	2,9932	5,6868	0,529				
12. II.	6,480	465	2,0815	5,5335	0,376				
13. II.	6,430	750	3,1240	7,1451	0,438				
14. II.	6,250	820	3,2148	5,0036	0,641				
15. II.	6,370	740	4,6916	6,9876	0,671				
16. II.	6,660	510	2,6724	2,6905	0,993				
17. II.	6,350	540	4,4636	5,1447	0,869	5,1236	5,4241	**0,944**	62,
18. II.	6,250	540	4,8650	5,3580	0,910				
19. II.	6,650	500	4,0102	4,3942	0,916				
20. II.	6,450	480	5,7031	5,7492	0,993				
21. II.	6,500	780	11,3685	8,0647	1,409				
22. II.	6,200	390	2,6442	4,5569	0,581				
23. II.	6,400	670	2,9480	6,7371	0,437				
24. II.	6,500	670	2,1440	4,9187	0,436				
25. II.	6,270	1000	2,8021	6,6968	0,419	2,7707	5,5806	0,496	71,
26. II.	6,330	550	4,7801	5,6096	0,852				
27. II.	6,550	450	2,0894	5,6772	0,368				
28. II.	6,300	705	1,9874	4,8682	0,407				

Tabelle IV.
Hund 2.

C : N	Kot			Kot-C g	Kot-N g	Nahrungs-N pro Tag g	Eiweiß-oxydation %	N-Bilanz		Bemerkungen
	Kotmenge g	C g	N g	pro Tag i. Perioden-durchschnitt				täglich	im Perioden-durchschnitt	
hnitt										
0,566	58,817	5,8906	3,8977	0,6545	0,4331	6,6510	78,2	+ 1,0401 + 1,8520 + 1,6331 + 0,5299 + 3,4776 + 1,2010 + 1,0510 + 1,6321 + 3,6669	+ 1,3540	Vorperiode
0,682	11,00	3,4191	0,9550	0,3108	0,0868	6,6510	**87,9**	+ 1,7195 + 0,6570 + 1,3731 — 0,4014 + 1,2921 + 1,3592 + 1,4636 — 0,8303 + 3,2634 + 0,9400 — 1,1767	**+ 0,7913**	Erste Hauptperiode
0,561	17,11	2,4002	0,7189	0,2667	0,0799	6,6510	85,5	+ 2,3960 + 2,3370 + 0,7000 + 2,8750 — 0,3647 — 0,2632 + 0,9642 + 1,1175 — 0,4941	+ 0,9494	Zwischenperiode
0,944	62,33	5,4014	2,0731	0,6751	0,2591	6,6510	**84,8**	+ 1,6474 — 0,3366 + 3,9605 + 1,5063 + 1,2930 + 2,2568 + 0,9018 — 1,4137	**+ 0,9678**	Zweite Hauptperiode
0,496	71,01	8,1008	3,1126	1,1572	0,4446	6,6510	89,9	+ 2,0941 — 0,0861 + 1,7323 + 0,0458 + 1,0414 + 0,9738 + 1,7828	+ 0,6257	Nachperiode

daß, je stärker positiv die N-Bilanz ist, um so weniger Harn-N im Vergleich zum resorbierten N zur Ausscheidung kommt, d. h. um so weniger Eiweiß prozentig oxydiert worden ist. Die absoluten Eiweißmengen, die oxydiert wurden, waren beim Hunde 1 in allen Perioden annähernd gleich, beim Hunde 2 in der Vorperiode ein wenig niedriger als in allen folgenden Perioden, in denen sie gleich blieben.

Der *Quotient* $C:N$ ist nun in allen Hauptperioden bei beiden Hunden deutlich gesteigert. Die Steigerung ist nur in einzelnen Perioden erheblicher, in anderen etwas geringer, aber immer doch ganz zweifelsfrei vorhanden. In den Vor-, Zwischen- und Nachperioden zeigt der Quotient bei beiden Hunden vielfach eine erstaunliche Gleichmäßigkeit. Die Steigerung des Quotienten beruht in erster Linie auf der Steigerung der absoluten Harn-C-Menge. Die Eiweißoxydation zeigt in ihren absoluten Werten keine nennenswerte Änderung, nur beim Hunde 2 lag sie in der Vorperiode etwas niedriger, als während des ganzen folgenden Versuchs. Wohl aber war die Eiweißoxydation im Verhältnis zu der Größe des resorbierten Nahrungseiweißes in der Mehrzahl der Versuche bei der *Maggi*schen Würzegabe auffallend niedrig. Hier war ja die Nahrungs-N-Resorption in der Regel besonders vollkommen. Wurde doch der mit der *Maggi*schen Suppenwürze zugeführte Stickstoff in der Regel tadellos resorbiert, wie aus den Kotanalysen hervorgeht. Das gleiche gilt auch für den Kohlenstoff.

Nachdem wir die im vorstehenden geschilderte, bisher gänzlich unbekannte Wirkung eines Aminosäuregemischs nach Art der *Maggi*schen Suppenwürze auf den intermediären Stoffwechsel festgestellt hatten, eine Wirkung, deren theoretische Erklärung heute noch verfrüht wäre, wird es die Aufgabe weiterer Untersuchung sein, mit reinen Aminosäuren diese Experimente zu wiederholen. Vielleicht haben wir einen Weg gefunden, auf dem sich die ernährungsphysiologische Bedeutung des nativen Eiweißes von derjenigen der Aminosäuren oder einzelner Aminosäuren untereinander differenzieren läßt. Es ist dabei wohl möglich, daß die Vermehrung des Harn-C mit dem Kohlehydratgehalt bestimmter Eiweißkörper in irgendwelchem Zusammenhang steht, wie er sich z. B. im Casein findet. Man müßte bei diesem Studium natürlich auch die Wirkung der Fütterung von nativem Casein mit derjenigen von Caseinhydrolysat auf die Ausscheidung des dysoxydablen Kohlenstoffs untersuchen.

Dadurch aber unterscheidet sich der durch die Aminosäuregabe erzeugte Zustand von dem durch die Traubenzuckergabe hervorgerufenen, daß die Quotienterhöhung bei dem ersteren durch eine Vermehrung des dysoxydablen Harn-C, bei dem letzteren aber durch eine Verminderung des Harn-N vor allem zustande kommt.

Zusammenfassung.

Wenn man einen kleinen Teil des nativen Nahrungseiweißes durch eine hinsichtlich des N-Gehaltes äquivalente Menge von Aminosäuren in Form der *Maggi*schen Suppenwürze ersetzt, so findet man folgendes:

1. die N- und C-Resorption der Nahrung im Darm wird im allgemeinen vollständiger;

2. die Eiweißoxydation im intermediären Stoffwechsel steigt dabei nicht an;

3. das Plus an resorbiertem N kommt, soweit das aus der Steigerung der Positivität der N-Bilanz gefolgert werden kann, zum Ansatz, wird jedenfalls retiniert;

4. der dysoxydable Harn-C vermehrt sich bei ungefähr gleichbleibendem N-Gehalt des Harns;

5. der Harnquotient C : N steigt an.

Weitere Untersuchungen über den Einfluß der Verfütterung aktiven Eisenoxyds auf den Stoffwechsel unter besonderer Berücksichtigung der N-Bilanz und des Verhaltens des Harnquotienten C : N[1].

Von

Igor Remesow (Leningrad).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 25. März 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die vorliegende Untersuchung ist eine Fortsetzung der Arbeiten des hiesigen Laboratoriums über den Einfluß von aktiven Eisenverbindungen auf den Stoffwechsel.

In der ersten hierher gehörigen Arbeit hatte *Wada* (1) auf Veranlassung von Professor *Bickel* bei Kaninchen aktives Eisenoxyd verfüttert, das nach der *Baudisch*schen Methode hergestellt worden war, und die Wirkung auf den Harnquotienten C : N studiert. In der zweiten Arbeit hatten *Bickel* (2), *Gleichmann* (2) und *Taslakowa* (2) einen frisch der Quelle entnommenen Stahlbrunnen (Moritzquelle in Bad Elster) an Kaninchen peroral verabfolgt und ebenfalls die Wirkung auf die Lage des Harnquotienten C : N untersucht. Beiden Arbeiten lag dieselbe Versuchsanordnung zugrunde. Die Kaninchen konnten nach Belieben Rübenfutter fressen, und es wurde weder die Größe der Nahrungsaufnahme, noch die Größe der Nahrungsresorption bestimmt. Dieses Vorgehen war deshalb berechtigt, weil durch frühere Untersucher, z. B. *Rubner* (3), festgestellt worden war, daß der Harnquotient C : N bei unterernährten oder gar hungernden Kaninchen sank, was wir auch im hiesigen Laboratorium öfters beobachten konnten. Bei den Versuchen mit dem aktiven Eisen und der Stahlquelle aber stieg dieser Quotient in der Regel stark an, und beim notorisch unterernährten Kaninchen blieb die Quotientsteigerung nach der Mineralwassergabe aus, und der Quotient strebte dem tiefen Werte des Hungerquotienten zu. Diese Beobachtung zeigte an, daß die den Quotienten C : N steigernde Wirkung des Eisens nur bei gleichzeitiger

[1] Dieses aktive Eisenoxyd wird von der Auergesellschaft in Berlin unter dem Namen „*Siderac*" in den Handel gebracht.

genügender Ernährung möglich ist, daß also diese Eisenwirkung an die Nahrungsaufnahme und Nahrungsverwertung im Körper geknüpft sein muß.

Innerhalb gewisser und keineswegs enger Grenzen kann beim Kaninchen die tägliche Nahrungsaufnahme im Periodendurchschnitt schwanken, wofern es sich um qualitativ immer genau das gleiche Futter handelt, ohne daß dadurch die Lage des Quotienten im Periodendurchschnitt nennenswert geändert wird. Bei einer innerhalb dieser Grenzen verminderten Nahrungsaufnahme sinken wohl der C- und N-Gehalt des Harns und steigen mit einer Erhöhung der Nahrungsaufnahme gemeinsam an, aber das Verhältnis von C : N im Harn bleibt in diesen Fällen dasselbe. Bei der Ausbildung des Hungerquotienten dagegen nimmt beim Kaninchen bei sinkender C- und N-Ausscheidung wegen der stark verringerten Nahrungsaufnahme die C-Ausscheidung im Verhältnis zur N-Ausscheidung erheblich ab; darum sinkt ja der Quotient in diesem Falle.

So liegen die Verhältnisse beim Kaninchen in der Norm unter verschiedenen Ernährungsbedingungen und bei der Gabe vom aktiven Eisenoxyd oder der Stahlquelle, wenn hierbei die Nahrungsaufnahme in quantitativer Hinsicht nicht limitiert ist. Die Steigerung des Quotienten wird bei den Eisenversuchen dann immer fast ausschließlich durch eine Senkung in der N-Ausscheidung durch den Harn herbeigeführt, während sich die täglichen Harn-C-Mengen in ihren absoluten Werten nicht oder nicht wesentlich ändern.

Beim Hunde liegen die Dinge ganz anders. Das Kaninchen als Pflanzenfresser scheidet in der Norm im Harne große C-Mengen und kleine N-Mengen aus. So ist der normale Quotient C : N beim Kaninchen hoch. Der Hund als Fleischfresser scheidet auch bei gemischter Nahrung im Harn größere N-Mengen und relativ geringere C-Mengen aus. Darum liegt der normale Quotient C : N beim Hunde äußerst niedrig. Die Konstanz der Quotientlage ist auch beim Hunde größer als beim Kaninchen, bei dem in der Norm die Höhenlage des Quotienten innerhalb keineswegs enger Grenzen von Tag zu Tag auch bei gleichmäßiger Ernährung schwanken kann. Dieser Unterschied zwischen der Stoffwechsellage des Hundes und des Kaninchens zeigt sich auch in dem Verhalten des Quotienten beim Hunger. Beim Kaninchen tritt hier, wie wir sahen, die starke Einschränkung von C und N im Harn bei sofortiger Senkung des Quotienten ein, während beim Hunde unter dem Einfluß des Hungers der Quotient ebenfalls bei verringerter C- und N-Ausscheidung zunächst wegen der initialen, besonders starken N-Sparung ansteigt, um erst allmählich wieder einen Abfall zu zeigen und schließlich in der Periode des prämortalen, gesteigerten Eiweißzerfalls wegen der hier einsetzenden starken Anreicherung des Harns mit Stickstoff beträchtlich unter die Norm zu sinken, wobei aber natürlich, wie schon gesagt, während der ganzen Hungerzeit die absoluten C-Mengen des Harns im Vergleich zur Norm vermindert sind.

Man hat überhaupt den Eindruck, daß beim Kaninchen Änderungen in der Lage des Quotienten unter dem Eindruck besonderer Bedingungen immer in erster Linie durch Änderungen in dem N-Gehalt des Harns hervorgerufen werden, während beim Hunde es neben Änderungen im N-Gehalt auch gar nicht so selten zu stärkeren Änderungen im C-Gehalt des Harns kommt, die dann in erster Linie für die Quotientänderungen verantwortlich sind.

Alle diese Feststellungen und Überlegungen zeigen, daß man Beobachtungen in dieser Richtung am Kaninchen nicht vorbehaltlos

Tabelle I.

Datum 1926	Körpergewicht kg	Harnmenge ccm	Harn-C g	Harn-N g	C : N	Harn-C g	Harn-N g	C : N
						pro Tag im Perioden-durchschnitt		
26. X.	10,300	970	3,1213	6,1155	0,510			
27. X.	10,150	735	4,0210	6,4873	0,619			
28. X.	10,200	600	7,3320	3,7827	1,938			
29. X.	10,300	730	2,6280	5,1136	0,513	3,6188	5,4827	0,660
30. X.	10,250	750	2,6600	5,6306	0,402			
31. X.	10,300	750	2,0400	5,5691	0,366			
1. XI.	10,100	795	3,5298	5,6806	0,618			
2. XI.	10,200	650	3,6163	4,6989	0,769			
3. XI.	10,300	760	2,3104	4,9830	0,467			
4. XI.	10,150	695	1,9321	5,5891	0,345	**3,0312**	**5,0097**	**0,605**
5. XI.	10,250	520	2,9224	4,2836	0,682			
6. XI.	10,340	690	3,7260	5,0714	0,738			
7. XI.	10,350	705	3,6801	5,4323	0,677			
8. XI.	10,200	690	5,8962	6,1095	0,965			
9. XI.	10,200	785	2,3844	5,5551	0,428			
10. XI.	10,220	775	3,1620	5,7981	0,545			
11. XI.	10,200	850	2,1466	5,2395	0,409	**2,8633**	**5,4719**	**0,523**
12. XI.	10,300	550	2,1175	5,3848	0,393			
13. XI.	10,300	550	2,2480	5,1627	0,435			
14. XI.	10,400	645	2,0888	5,0607	0,414			
15. XI.	10,200	785	3,1928	5,4684	0,582			
16. XI.	10,400	560	3,1601	3,6875	0,860			
17. XI.	10,400	620	3,1818	3,2313	0,988			
18. XI.	10,300	845	3,4990	4,9011	0,711			
19. XI.	10,250	900	2,7000	5,3762	0,502			
20. XI.	10,200	765	5,0533	5,6604	0,898			
21. XI.	10,200	730	5,6720	4,9091	1,153			
22. XI.	10,200	610	5,0670	4,6491	1,089			
23. XI.	10,200	720	6,1461	4,9024	1,253			
24. XI.	10,250	620	4,8110	4,7346	1,016			
25. XI.	10,400	150	5,1078	4,5015	1,134	4,1590	4,8961	0,849
26. XI.	10,200	850	5,2012	5,7924	0,891			
27. XI.	10,320	580	4,8057	4,8917	0,982			
28. XI.	10,100	650	5,2020	5,0150	1,037			
29. XI.	10,200	550	4,0717	4,6387	0,877			
30. XI.	10,100	845	4,4421	5,5167	0,805			
1. XII.	10,300	535	3,1014	5,1309	1,604			
2. XII.	10,200	755	2,5251	4,8866	0,517			
3. XII.	10,170	640	2,9056	5,4529	0,532			
4. XII.	10,250	745	3,3944	5,4033	0,628			
5. XII.	10,290	660	4,0993	4,0685	1,007			

belle I.

Hund 1.

Kot			Nahrungs-N	N-Bilanz		Bemerkungen
Kotmenge g	C g	N g	g	Täglich	pro Perioden-durchschnitt	
				+ 1,0939		Harnreaktion: sauer, Eiweiß, Zucker neg.
				+ 0,7221		" " " "
				+ 3,4267		" " " "
0,660 64,04	24,9090	7,7211	7,2094	+ 2,0958	+ 0,7615	" " " "
				+ 1,5788		" " " "
				+ 1,6403		" " " "
				+ 1,5288		" " " "
				+ 2,5105		" " " "
				+ 2,2264		" " " "
0,605 64,17	21,8887	8,1414	7,2094	+ 1,6203	+ **0,8428**	" " " "
				+ 2,9258		" " " "
				+ 2,1380		" " " "
				+ 1,7771		" " " "
				+ 1,0999		" " " "
				+ 1,6543		schwach alkalisch
				+ 1,4113		" "
0,523 102,14	10,0780	5,7701	7,2094	+ 1,9699	+ **0,9122**	schwach sauer
				+ 1,8246		sauer
				+ 2,0467		"
				+ 2,1487		sauer, Eiweiß (+)
				+ 1,7410		" " (+)
				+ 3,5219		" " (Spur)
				+ 3,9781		schw. sauer, Eiw., fortan neg.
				+ 2,3083		alkalisch
				+ 1,8332		"
				+ 1,5490		"
				+ 2,3003		schwach sauer
				+ 2,5603		" "
				+ 2,3070		alkalisch
				+ 2,4748		"
0,849 98,67	19,9181	17,6618	7,2094	+ 2,7079	+ 1,4722	schwach sauer
				+ 1,4170		sauer
				+ 2,3177		"
				+ 2,1944		"
				+ 2,5707		schwach alkalisch
				+ 1,6927		" "
				+ 2,0785		alkalisch
				+ 2,3228		"
				+ 1,7565		schwach sauer
				+ 1,8061		alkalisch
				+ 2,1409		"

Vorperiode

Erste Eisenperiode

Zwischenperiode ohne Eisen

Tabelle I.

Datum 1926	Körpergewicht kg	Harnmenge ccm	Harn-C g	Harn-N g	C:N	Harn-C g	Harn-N g	C:N
						pro Tag im Perioden-durchschnitt		
6. XII.	10,200	670	3,1440	4,9749	0,632			
7. XII.	10,200	625	2,4134	4,2139	0,572			
8. XII.	10,300	650	3,3800	5,7411	0,588			
9. XII.	10,350	550	0,4870	2,8931	0,168	**1,5941**	**4,5293**	**0,352**
10. XII.	10,360	760	0,1368	4,1660	0,032			
11. XII.	10,300	750	0,9150	5,2538	0,174			
12. XII.	10,350	525	0,6825	4,4625	0,152			
13. XII.	10,250	820	0,9778	4,9629	0,197			
14. XII.	10,200	820	0,5989	6,6636	0,089			
15. XII.	10,350	630	0,4129	4,1536	0,099			
16. XII.	10,150	775	0,1039	5,4072	0,019	**0,3577**	**5,4661**	**0,065**
17. XII.	10,400	565	0,0689	4,4169	0,015			
18. XII.	10,300	790	0,1335	6,7695	0,019			
19. XII.	10,120	810	0,2080	5,8890	0,035			
20. XII.	10,300	630	1,0802	4,3249	0,249			
21. XII.	10,300	625	0,7563	4,1906	0,181			
22. XII.	10,050	805	3,1878	5,2556	0,600			
23. XII.	10,200	500	2,7900	5,0716	0,550			
24. XII.	10,050	615	3,4828	4,0219	0,861	2,7822	4,8947	0,568
25. XII.	10,050	780	4,4148	5,0486	0,874			
26. XII.	10,000	685	3,2281	5,6621	0,570			
27. XII.	10,200	680	3,3176	5,5827	0,594			
28. XII.	10,200	430	2,9982	6,5833	0,456			
29. XII.	10,000	735	2,7489	4,8794	0,562			
30. XII.	9,900	655	3,1622	6,2951	0,502			
31. XII.	9,900	620	2,5953	5,4996	0,474	3,8205	5,8037	0,658
1. I. 1927	9,880	855	3,0622	5,9989	0,511			
2. I.	9,800	740	6,4060	6,6766	0,962			
3. I.	9,960	620	5,7722	4,6932	1,229			
4. I.	9,850	640	3,9240	5,2005	0,741			
5. I.	9,850	880	3,6452	5,1781	0,708			
6. I.	9,700	750	4,5060	6,0639	0,741			
7. I.	9,960	655	3,2579	5,5243	0,589			
8. I.	9,900	610	3,4167	4,8542	0,703			
9. I.	9,930	605	1,3521	4,8992	0,276			
10. I.	9,900	735	3,3991	5,6890	0,598	3,0344	5,2927	0,573
11. I.	9,800	965	1,3413	4,6237	0,290			
12. I.	9,890	735	2,1460	5,2534	0,408			
13. I.	9,980	850	3,1245	5,1262	0,607			
14. I.	9,750	995	3,2104	6,0786	0,530			
15. I.	9,800	870	3,0894	5,0217	0,615			

Hund 1 (Fortsetzung).

Kot			Nahrungs-N	N-Bilanz			Bemerkungen
Kotmenge g	C g	N g	g	Täglich	pro Perioden-durchschnitt		
				+ 2,2345			Harnreaktion: alkalisch
				+ 2,9955			"
				+ 1,4683			"
45,65	10,0710	2,3028	7,2094	+ 4,3163	+ **2,3711**	Zweite Eisenperiode	"
				+ 3,0434			"
				+ 1,9556			"
				+ 2,7469			stark alkalisch
				+ 2,2465			alkalisch
				+ 0,5458			schwach alkalisch
				+ 3,0558			" "
68,52	9,9177	3,2257	7,2094	+ 1,8022	+ **1,2825**		alkalisch
				+ 2,7125			"
				+ 0,4399			"
				+ 1,3204			"
				+ 2,8845			"
				+ 3,0188			schwach alkalisch
				+ 1,9538			schwach sauer
				+ 2,1378			" "
49,38	8,8800	3,1041	7,2094	+ 3,1875	+ 1,9266		alkalisch
				+ 2,1608			"
				+ 1,5473			schwach alkalisch
				+ 1,6267			alkalisch
				+ 0,6261			"
				+ 2,3300			schwach sauer
				+ 0,9143			schwach alkalisch
69,79	11,9751	3,3492	7,2094	+ 1,7098	+ 0,9272	Nachperiode ohne Eisenzulage	" "
				+ 1,2105			sauer
				+ 0,5328			schwach alkalisch
				+ 2,5162			alkalisch
				+ 2,0089			schwach alkalisch
				+ 2,0313			schwach sauer
				+ 1,1455			sauer
				+ 1,6851			"
				+ 2,3552			"
74,99	13,4401	4,1020	7,2094	+ 2,3102	+ 1,5748		schwach sauer
				+ 1,5204			sauer
				+ 2,5857			"
				+ 1,9560			"
				+ 2,0832			"
				+ 1,1308			"
				+ 2,1877			"

Tabelle 11.

Datum 1926	Körpergewicht kg	Harnmenge ccm	Harn-C g	Harn-N g	C : N	Harn-C g	Harn-N g	C : N
						pro Tag im Perioden-durchschnitt		
25. X.	6,400	970	4,2962	4,2128	1,019			
26. X.	6,250	975	3,1700	5,3133	0,596			
27. X.	6,430	700	3,2819	4,2758	0,767			
28. X.	6,300	890	1,4952	5,7856	0,258	2,0414	4,3824	0,465
29. X.	6,250							
30. X.	6,400	840	1,5120	4,5125	0,335			
31. X.	6,300	790	1,0270	5,9324	0,173			
1. XI.	6,300	780	1,5489	5,0272	0,308			
2. XI.	6,200	460	3,2695	3,9957	0,819			
3. XI.	6,170	685	5,6972	4,3378	1,313			
4. XI.	6,230	835	6,0450	5,4959	1,999			
5. XI.	6,350	865	4,9651	5,1627	0,964	**5,0129**	**4,9269**	**1,017**
6. XI.	6,250	1145	5,8891	6,4166	0,917			
7. XI.	6,500	780	4,2120	4,1527	1,014			
8. XI.	6,250	990	6,0179	6,9343	0,869			
9. XI.	6,270	735	2,1609	3,5834	0,576			
10. XI.	6,330	875	4,0930	4,5338	0,902			
11. XI.	6,400	760	4,9721	5,2174	0,952	**4,8137**	**4,6149**	**1,043**
12. XI.	6,300	1050	6,9930	5,8254	1,200			
13. XI.	6,400	780	5,4412	4,1527	1,310			
14. XI.	6,100	120	4,0180	2,0578	1,952			
15. XI.	6,130	820	4,9981	5,2845	0,948			
16. XI.	6,200	790	5,1833	4,0020	1,295			
17. XI.	6,410	810	5,8121	3,2698	1,777			
18. XI.	6,230	935	3,4281	4,5805	0,748			
19. XI.	6,200	730	2,1900	3,2656	0,640			
20. XI.	6,200	815	1,1291	3,5168	0,319			
21. XI.	6,250	675	3,3418	3,2153	1,039			
22. XI.	6,150	712	3,5159	3,7307	0,942			
23. XI.	6,150	745	3,2120	3,9662	0,809			
24. XI.	6,100	820	4,1500	4,0174	1,033			
25. XI.	6,280	690	4,0101	3,9891	1,005			
26. XI.	6,100	850	4,0970	4,8261	0,849	3,5991	4,2481	0,847
27. XI.	6,150	910	4,0238	4,0686	0,989			
28. XI.	6,070	810	4,1440	4,4258	0,936			
29. XI.	6,200	680	4,9887	5,0874	0,980			
30. XI.	6,080	970	4,0191	4,8923	0,822			
1. XII.	6,120	610	4,0021	4,0679	0,983			
2. XII.	6,100	815	1,3205	3,8824	0,340			
3. XII.	6,100	735	3,3304	5,3135	0,627			
4. XII.	6,180	735	3,4826	3,7030	0,926			
5. XII.	6,250	720	3,2832	6,2943	0,521			
6. XII.	6,200	950	2,1708	4,0912	0,531			
7. XII.	6,330	725	3,0011	4,2157	0,712			
8. XII.	6,150	795	3,4597	5,4776	0,632			
9. XII.	6,170	890	4,0218	4,2532	0,946			
10. XII.	6,300	755	3,8970	4,3390	0,898			
11. XII.	6,000	365	2,1884	3,4991	0,625	3,4343	4,6425	0,739
12. XII.	6,000	650	3,0191	5,8192	0,519			
13. XII.	6,150	745	4,0200	4,4672	0,899			

Hund 2.

Kot			Nahrungs-N	N-Bilanz			Bemerkungen
Kotmenge g	C g	N g	g	Täglich	pro Perioden-durchschnitt		
				+ 2,4382		Vorperiode	Harnreaktion: sauer
				+ 1,3377			-
				+ 2,3752			-
74,65	20,1202	9,4177	6,6510	+ 0,8654	+ 1,0914		-
				+ 2,1385			-
				+ 0,7186			-
				+ 1,5238			-
				+ 2,6553		Erste Eisenperiode	-
				+ 2,3132			-
75,15	5,6474	2,4758	6,6510	+ 1,1551	+ **1,3115**		alkalisch
				+ 1,4883			-
				+ 0,2344			-
				+ 2,4983			sauer
				− 0,2833			alkalisch
				+ 3,0676			-
				+ 2,1172			schwach sauer
75,05	7,2999	3,3430	6,6510	+ 1,4336	+ **1,5584**		sauer
				+ 0,8256			-
				+ 2,4983			-
				+ 4,5932			-
				+ 1,3665		Zwischenperiode ohne Eisen	-
				+ 2,6490			schwach alkalisch
				+ 3,3812			alkalisch
				+ 2,0705			sauer
				+ 3,3854			alkalisch
				+ 3,1342			-
				+ 3,4357			-
				+ 2,5598			-
				+ 2,4353			sauer
				+ 1,1734			-
				+ 2,3978			-
81,71	23,9806	14,7170	6,6510	+ 2,3120	+ 1,7630		-
				+ 3,1519			schwach sauer
				+ 0,8318			schwach alkalisch
				+ 2,1838			alkalisch
				+ 2,6968			sauer
				+ 2,0185			alkalisch
				+ 1,0603			stark alkalisch
				+ 0,7954			schwach alkalisch
				+ 0,6217			alkalisch
				+ 0,9713			-
				+ 2,5598			-
				+ 2,4353			-
				+ 1,1734			-
				+ 2,3978			schwach alkalisch
23,08	5,1008	3,0171	6,6510	+ 2,3120	+ 1,5056		alkalisch
				+ 3,1519			-
				+ 0,8318			schwach sauer
				+ 2,1838			sauer

Tabelle II.

Datum 1926	Körpergewicht kg	Harnmenge ccm	Harn-C g	Harn-N g	C:N	Harn-C g	Harn-N g	C:N
						pro Tag im Perioden-durchschnitt		
14. XII.	6,150	480	3,1972	3,9542	0,807			
15. XII.	6,200	835	2,7980	4,6325	0,603			
16. XII.	6,180	745	2,0407	5,5907	0,366			
17. XII.	6,150	860	2,5320	5,8556	0,433	2,7627	5,4975	0,502
18. XII.	6,050	895	3,9907	7,2727	0,548			
19. XII.	6,050	795	2,0177	5,6797	0,355			
20. XII.	6,200	670	2,6998	3,7305	0,722			
21. XII.	6,150	430	9,9340	6,2565	1,587			
22. XII.	6,300	745	7,1289	4,4026	1,618			
23. XII.	6,100	730	0,4974	7,7122	0,064			
24. XII.	6,110	700	3,5744	5,3429	0,668	**4,4795**	**5,6566**	**0,792**
25. XII.	6,050	890	3,5343	5,8571	0,601			
26. XII.	6,000	875	4,2782	6,5071	0,658			
27. XII.	6,200	645	4,1893	5,4443	0,768			
28. XII.	6,300	720	4,0076	4,8813	0,820			
29. XII.	6,250	840	4,0385	5,7832	0,699			
30. XII.	6,200	775	2,9226	5,0801	0,578			
31. XII.	6,250	685	3,1836	4,9074	0,649	**3,4104**	**5,7153**	**0,596**
1927								
1. I.	6,150	950	2,8999	7,9248	0,364			
2. I.	6,150	690	1,6642	6,0321	0,274			
3. I.	6,250	480	0,5232	3,6969	0,141			
4. I.	6,100	810	1,9231	7,7167	0,249			
5. I.	6,250	620	2,9388	6,2880	0,467	2,6989	5,9225	0,455
6. I.	6,150	760	3,2860	3,6637	0,898			
7. I.	6,100	745	4,1940	7,8209	0,536			
8. I.	6,100	760	4,3330	6,2395	0,693			
9. I.	6,150	805	3,7220	5,1879	0,720			
10. I.	6,290	700	3,3281	5,5900	0,579			
11. I.	6,100	1240	5,2129	8,1650	0,640			
12. I.	6,300	630	4,5120	4,4923	1,004	3,7527	5,2606	0,713
13. I.	6,160	1010	2,1285	3,7356	0,570			
14. I.	6,050	845	3,4412	3,5646	0,965			
15. I.	6,100	850	3,9241	6,0887	0,648			
16. I.	6,300	755	3,3415	5,6109	0,595			
17. I.	6,150	690	2,0192	4,7990	0,420			
18. I.	6,100	1020	2,6444	5,0179	0,526			
19. I.	6,210	710	3,3407	6,1211	0,545			
20. I.	6,250	865	2,4890	3,1734	0,771	2,7568	4,8639	0,566
21. I.	6,300	630	3,5571	5,4500	0,650			
22. I.	6,270	765	2,9127	5,6000	0,520			
23. I.	6,170	610	3,3428	5,0189	0,665			
24. I.	6,350	480	1,1644	2,9841	0,390			

Hund 2 (Fortsetzung).

Kot			Nahrungs-N	N-Bilanz		Bemerkungen	
Kotmenge g	C g	N g	g	Täglich	pro Perioden-durchschnitt		
							Harnreaktion:
				+ 2,6968		Zwischenper. ohne Eisen	sauer
				+ 2,0185			"
28,53	4,7788	2,9879	6,6510	+ 1,0603	+ 0,6554		"
				+ 0,7954			"
				— 0,6217			"
				+ 0,9713			"
				+ 2,9205		Eisenperiode	schwach sauer
				+ 0,3945			schwach alkalisch
				+ 2,2484			alkalisch
23,44	4,0761	1,4101	6,6510	+ 1,0612	+ **0,8181**		"
				+ 1,3081			"
				+ 0,7939			"
				+ 0,1439			"
				+ 1,2067			"
				+ 1,7697		Zweite	schwach sauer
				+ 0,8678			" "
				+ 1,5709			" "
21,01	6,5005	2,3925	6,6510	+ 1,7436	+ **0,4571**		sauer
				— 1,2738			schwach alkalisch
				+ 0,6189		Nachperiode ohne Eisenzulage	alkalisch
				+ 2,9541			"
				— 1,0657			"
30,95	11,3173	3,7488	6,6510	+ 0,3630	+ 0,1929		sauer
				+ 2,9873			"
				+ 1,1699			"
				+ 0,4115			"
				+ 1,4631			"
				+ 1,0610			"
				— 1,5140			schwach alkalisch
34,40	6,9877	3,0444	6,6510	+ 2,1587	+ 0,9510		alkalisch
				+ 2,9154			"
				+ 3,0864			schwach sauer
				+ 0,5623			sauer
				+ 1,0401			"
				+ 1,8520			"
				+ 1,6331			"
				+ 0,5299			"
58,82	5,8906	3,8977	6,6510	+ 3,4776	+ 1,3940		"
				+ 1,2010			"
				+ 1,0510			"
				+ 1,6321			"
				+ 3,6669			"

Tabelle II.

Datum 1926	Körpergewicht kg	Harnmenge ccm	Harn-C g	Harn-N g	C:N	Harn-C g pro Tag im Perioden-durchschnitt	Harn-N g pro Tag im Perioden-durchschnitt	C:N pro Tag im Perioden-durchschnitt
14. XII.	6,150	480	3,1972	3,9542	0,807			
15. XII.	6,200	835	2,7980	4,6325	0,603			
16. XII.	6,180	745	2,0407	5,5907	0,366	2,7627	5,4975	0,502
17. XII.	6,150	860	2,5320	5,8556	0,433			
18. XII.	6,050	895	3,9907	7,2727	0,548			
19. XII.	6,050	795	2,0177	5,6797	0,355			
20. XII.	6,200	670	2,6998	3,7305	0,722			
21. XII.	6,150	430	9,9340	6,2565	1,587			
22. XII.	6,300	745	7,1289	4,4026	1,618			
23. XII.	6,100	730	0,4974	7,7122	0,064	**4,4795**	**5,6566**	**0,792**
24. XII.	6,110	700	3,5744	5,3429	0,668			
25. XII.	6,050	890	3,5343	5,3571	0,601			
26. XII.	6,000	875	4,2782	6,5071	0,658			
27. XII.	6,200	645	4,1893	5,4443	0,768			
28. XII.	6,300	720	4,0076	4,8813	0,820			
29. XII.	6,250	840	4,0385	5,7832	0,699			
30. XII.	6,200	775	2,9226	5,0801	0,578			
31. XII.	6,250	685	3,1836	4,9074	0,649	**3,4104**	**5,7153**	**0,596**
1927								
1. I.	6,150	950	2,8999	7,9248	0,364			
2. I.	6,150	690	1,6642	6,0321	0,274			
3. I.	6,250	480	0,5232	3,6969	0,141			
4. I.	6,100	810	1,9231	7,7167	0,249			
5. I.	6,250	620	2,9388	6,2880	0,467	2,6989	5,9225	0,455
6. I.	6,150	760	3,2860	3,6637	0,898			
7. I.	6,100	745	4,1940	7,8209	0,536			
8. I.	6,100	760	4,3330	6,2395	0,693			
9. I.	6,150	805	3,7220	5,1879	0,720			
10. I.	6,290	700	3,3281	5,5900	0,579			
11. I.	6,100	1240	5,2129	8,1650	0,640			
12. I.	6,300	630	4,5120	4,4923	1,004	3,7527	5,2606	0,713
13. I.	6,160	1010	2,1285	3,7356	0,570			
14. I.	6,050	845	3,4412	3,5646	0,965			
15. I.	6,100	850	3,9241	6,0887	0,648			
16. I.	6,300	755	3,3415	5,6109	0,595			
17. I.	6,150	690	2,0192	4,7990	0,420			
18. I.	6,100	1020	2,6444	5,0179	0,526			
19. I.	6,210	710	3,3407	6,1211	0,545			
20. I.	6,250	865	2,4890	3,1734	0,771	2,7568	4,8639	0,566
21. I.	6,300	630	3,5571	5,4500	0,650			
22. I.	6,270	765	2,9127	5,6000	0,520			
23. I.	6,170	610	3,3428	5,0189	0,665			
24. I.	6,350	480	1,1644	2,9841	0,390			

abelle II. und 2 (Fortsetzung).

C:N	Kot			Nahrungs-N	N-Bilanz			Bemerkungen
oden-	Kotmenge g	C g	N g	g	Täglich	pro Perioden-durchschnitt		
								Harnreaktion:
					+ 2,6968		Zwischenper. ohne Eisen	sauer
					+ 2,0185			-
0,502	28,53	4,7788	2,9879	6,6510	+ 1,0603	+ 0,6554		-
					+ 0,7954			-
					— 0,6217			-
					+ 0,9713			-
					+ 2,9205		Eisenperiode	schwach sauer
					+ 0,3945			schwach alkalisch
					+ 2,2484			alkalisch
0,792	23,44	4,0761	1,4101	6,6510	+ 1,0612	+ **0,8181**		-
					+ 1,3081			-
					+ 0,7939			-
					+ 0,1439			-
					+ 1,2067			-
					+ 1,7697		Zweite	schwach sauer
					+ 0,8678			- -
					+ 1,5709			- -
0,596	21,01	6,5005	2,3925	6,6510	+ 1,7436	+ **0,4571**		sauer
					— 1,2738			schwach alkalisch
					+ 0,6189			alkalisch
					+ 2,9541			-
					— 1,0657			-
0,455	30,95	11,3173	3,7488	6,6510	+ 0,3630	+ 0,1929		sauer
					+ 2,9873			-
					+ 1,1699			-
					+ 0,4115			-
					+ 1,4631		Eisenzulage	-
					+ 1,0610			-
					— 1,5140			schwach alkalisch
713	34,40	6,9877	3,0444	6,6510	+ 2,1587	+ 0,9510		alkalisch
					+ 2,9154			-
					+ 3,0864			schwach sauer
					+ 0,5623			sauer
					+ 1,0401		ohne	-
					+ 1,8520			-
					+ 1,6331			-
					+ 0,5299			-
566	58,82	5,8906	3,8977	6,6510	+ 3,4776	+ 1,3940		-
					+ 1,2010			-
					+ 1,0510			-
					+ 1,6321			-
					+ 3,6669		Nachperiode	-

auf den Hund anwenden darf, daß man also auch nicht ohne weiteres annehmen darf, es müsse sich z. B. die Wirkung der peroralen Zufuhr vom aktiven Eisenoxyd in genau denselben Symptomen beim Hund äußern, wie es beim Kaninchen der Fall war. Besonders darf man eine solche Annahme dann nicht machen, wenn die allgemeinen Versuchsbedingungen bei den Versuchen an beiden Tierarten obendrein nicht identisch waren, wenn z. B. das Kaninchen bei in quantitativer Hinsicht frei gewählter Nahrungsaufnahme gehalten wurde, während der Hund eine qualitativ und quantitativ genau bestimmte und immer gleiche Nahrungsration täglich erhielt. Im ersten Falle hat es der Körper ganz in der Hand, die Heranschaffung beliebiger Nahrungsquanten nach dem jeweiligen Bedarf zu regulieren, der Stoff- und Kraftwechsel kann sich gewissermaßen ungehemmt ausleben, während im letzteren Falle der Stoff- und Kraftumsatz in bestimmte Grenzen eingespannt erscheint, bei deren Überschreitung nach der einen Richtung der Körper sofort auf Kosten seiner eigenen Substanz leben muß.

Wenn man nach alledem nicht erwarten kann, daß die einzelnen Symptome nach der Verfütterung aktiven Eisens beim Kaninchen und Hunde identisch sein müßten, besonders wenn man bei solchen Versuchen das Kaninchen bei einer frei gewählten Nahrungsaufnahme in quantitativer Hinsicht läßt, dem Hunde aber ein qualitativ und quantitativ bestimmtes Nahrungsquantum vorschreibt, so darf man doch erwarten, daß in den grundsätzlichen Änderungen im Kraft- und Stoffwechsel, die bei solchen verschieden angeordneten Versuchen bei verschiedenen Tierarten zur Beobachtung gelangen, eine Übereinstimmung besteht.

Bevor wir nun auf unsere eigenen Versuche eingehen, die das Ziel hatten, beim Hunde, der eine qualitativ und quantitativ genau limitierte Kost täglich erhielt, den Einfluß der peroralen Zufuhr von aktivem Eisenoxyd, das nach der *Baudisch*schen (4) Methode hergestellt war, und das auch *Wada* (1) bei seinen früher schon erwähnten Kaninchenversuchen benutzt hatte, auf den Stoffwechsel zu untersuchen, scheint es mir wünschenswert, vorher noch kurz der Versuche zu gedenken, die *Arnoldi* (5) mit eben diesem Eisenoxyd an Ratten angestellt hat, um festzustellen, ob unter dem Eindruck dieser Eisengabe eine Gaswechseländerung aufträte. In einem sehr wohl gelungenen und lang dauernden Versuche sah *Arnoldi* (5) bei einer Ratte, daß während der Eisenperiode selbst der Sauerstoffverbrauch, wie auch der respiratorische Quotient normal blieben, während im Anschluß daran in der Nachperiode, in der das Tier keine Zulage von aktivem Eisenoxyd zur Nahrung mehr erhielt und die 14 Tage dauerte, der Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Minute deutlich vermehrt war bei steigendem Körpergewicht, aber gleichbleibendem respiratorischen Quotienten. Daraus geht hervor, daß die Gabe von aktivem Eisenoxyd eine starke Nachwirkung ausübt, die in einer Erhöhung der Oxydationen, gemessen am Luftsauerstoffverbrauch, gipfelt, wobei aber nicht eine einzelne Nahrungskomponente zu der vermehrten Oxydation herangezogen wird, sondern Fett und Kohle-

hydrat, vielleicht auch Eiweiß in gleichem Maße vermehrt verbrannt werden. Über das Schicksal des Eiweißes nach der Eisengabe gaben erst meine Versuche richtigen Aufschluß; die beobachtete Gaswechseländerung bei der Ratte konnte natürlich auch ohne Mitwirkung von Eiweiß zustandegekommen sein, allein durch erhöhte Fett- und Kohlehydratverbrennung.

Ich wende mich nun zunächst der Schilderung meiner Versuche an Hunden und der Zusammenfassung ihrer allgemeinen Ergebnisse zu.

Die Versuche wurden an zwei Hunden 1 und 2 folgendermaßen ausgeführt. Die Tiere bekamen täglich genau die gleiche, aus Weizeneiweiß, Reis, frischer Butter, frischer Hefe und Salzgemisch bestehende Nahrung, wie sie in der Tabelle III verzeichnet ist, und die kalorisch (etwa 80 Cal pro Kilogramm) so bemessen war, daß das Körpergewicht in der Vorperiode konstant blieb, und die so viel Stickstoff enthielt, daß eine schwach positive N-Bilanz in der Vorperiode vorhanden war, die bei dem Hund 1: + 0,76, bei dem Hund 2: + 1,09 betrug.

Tabelle III. Nahrungsmitteltabelle:

	Hund 1 etwa 10,300 bis 9,600 kg Körpergewicht	Hund 2 etwa 6,300 bis 6,150 kg Körpergewicht
Weizeneiweiß	45,0 g	45,0 g
Reis	80,0 g	40,0 g
Frische Butter	20,0 g	15,0 g
„ Hefe	9,0 g	6,0 g
Zellsalzgemisch	1,5 g	1,0 g
Kochsalz	1,5 g	1,0 g
N-Gehalt der Nahrung	7,2094 g N	6,6510 g N
Nährwert etwa	791,51 cal	548,24 cal

Zusammensetzung:

1 g Weizeneiweiß = 0,13394 g N
1 g Reis = 0,01232 g N
1 g Hefe (frisch) = 0,02176 g N

Zellsalzgemisch:

Calcium phosphoricum	=	100,0 g
Magnesium citricum	=	100,0 g
Kalium chloratum	=	15,0 g
Ferrum citricum	=	30,0 g
Jodum purum	=	0,05 g
Kalium jodatum	=	0,10 g

In den 24stündigen, spontan entleerten Harnmengen wurden der Stickstoff nach *Kjeldahl*, der Kohlenstoff nach der, in der Arbeit von *Gomez* (6) beschriebenen modifizierten Methode von *Tangl-Kereszty* (7)

Tabelle IV.

Periode	Zahl der Tage	Harn-C		Harn-N		C : N im Perioden-durchschnitt
		pro Periode g	pro Tag im Perioden-durchschnitt g	pro Periode g	pro Tag im Perioden-durchschnitt g	
1. Periode 26. X. bis 1. XI. 1926	7	25,3321	3,6188	38,3794	5,4827	0,660
2. Periode 2. XI. bis 7. XI. . .	6	18,1873	3,0312	30,0583	5,0097	**0,605**
3. Periode 8. XI. bis 14. XI. . .	7	20,0435	2,8633	38,3104	5,4719	**0,523**
4. Periode *) 15. XI. bis 5. XII. .	21	87,3394	4,1590	102,8183	4,8961	0,849
5. Periode 6. XII. bis 12. XII. .	7	11,1587	1,5941	31,7053	4,5293	**0,352**
6. Periode 13. XII. bis 19. XII. .	6	2,5039	0,3577	38,2627	5,4661	**0,065**
7. Periode 20. XII. bis 27. XII. .	8	22,2576	2,7822	39,1580	4,8947	0,568
8. Periode 28. XII. bis 3. I. 1927	7	26,7440	3,8205	40,6261	5,8037	0,658
9. Periode 4. I. bis 15. I. . . .	12	36,4126	3,0344	63,5128	5,2927	0,573
						Hund
1. Periode 25. X. bis 1. XI. 1926	8	16,3312	2,0414	35,0596	4,3824	0,465
2. Periode 2. XI. bis 7. XI. . .	6	30,0779	5,0129	29,5614	4,9269	**1,017**
3. Periode 8. XI. bis 14. XI. . .	7	33,6961	4,8137	32,3048	4,6149	**1,043**
4. Periode 15. XI. bis 7. XII. .	23	82,7798	3,5991	97,7061	4,2481	0,847
5. Periode 8. XII. bis 13. XII. .	6	20,6060	3,4343	27,8553	4,6425	0,739
6. Periode 14. XII. bis 19. XII. .	6	16,5763	2,7627	32,9854	5,4975	0,502
7. Periode 20. XII. bis 27. XII. .	8	35,8363	4,4795	45,2532	5,6566	**0,792**
8. Periode 28. XII. bis 1. I. 1927	5	17,0522	3,4104	28,5768	5,7153	**0,596**
9. Periode 2. I. bis 8. I.	7	18,8823	2,6989	41,4578	5,9225	0,455
10. Periode 9. I. bis 15. I. . . .	7	26,2688	3,7527	36,8241	5,2606	0,713
11. Periode 15. I. bis 24. I. . . .	9	24,8118	2,7568	43,7753	4,8639	0,566

*) 15. XI. bis 21. XI. C : N = 0,694; C täglich: 3,7798; N täglich: 4,7477.
22. XI. „ 28. XI. C : N = 1,053; C „ 5,1915; N „ 4,9266.
29. XI. „ 5. XII. C : N = 0,631; C „ 3,1628; N „ 5,0139.

Hund 1.

Kot-C		Kot-N		Nahrungs-N pro Tag	N-Bilanz im Periodendurchschnitt	
pro Periode	pro Tag im Perioden-durchschnitt	pro Periode	pro Tag im Perioden-durchschnitt			
g	g	g	g			
21,7980	3,1140	6,7557	0,9651	7,2094	+ 0,7615	Vorperiode
21,8887	3,6480	8,1414	1,3569	7,2094	+ **0,8428**	Erste Eisen-periode
10,0780	1,4397	5,7701	0,8243	7,2094	+ **0,9122**	
19,9181	0,9484	17,6618	0,8410	7,2094	+ 1,4722	Zwischenperiode
10,0710	1,4387	2,3028	0,3289	7,2094	+ **2,3711**	Zweite Eisen-periode
9,9177	1,4168	3,2257	0,4680	7,2094	+ **1,2825**	
8,8800	1,1100	3,1041	0,3880	7,2094	+ 1,9266	Nachperiode
11,9751	1,7107	3,3442	0,4784	7,2094	+ 0,9272	
13,4401	1,1200	4,1020	0,3418	7,2094	+ 1,5748	
2.						
20,1202	2,5150	9.4177	1,1772	6,6510	+ 1,0914	Vorperiode
5,6474	0,9412	2,4758	0,4126	6,6510	+ **1,3115**	Erste Eisen-periode
7,2999	1,0428	3,3430	0,4996	6,6510	+ **1,5584**	
23,9806	1,0426	14,7170	0,6398	6,6510	+ 1,7630	Zwischen-periode
5,1008	0,8501	3,0171	0,5028	6,6510	+ 1,5056	
4,7788	0,7964	2,9879	0,4979	6,6510	+ 0,6554	
4,0761	0,5095	1,4101	0,1762	6,6510	+ **0,8181**	Zweite Eisen-periode
6,5005	1,3001	2,3925	0,4785	6,6510	+ **0,4571**	
11,3173	1,6167	3,7488	0,5355	6,6510	+ 0,1929	Nachperiode
6,9877	0,9982	3,0444	0,4394	6,6510	+ 0,9510	
5,8906	0,6545	3,8977	0,4331	6,6510	+ 1,3940	

bestimmt[1]). Der Kot wurde nach Abgrenzung mit Carmin für jede Periode oder größere Periodenabschnitte gesondert gesammelt. Er wurde nach der Methode von *Poda* (8) getrocknet und dann gemahlen. Es wurden periodenweise in Durchschnittsproben der Stickstoff und Kohlenstoff bestimmt, natürlich unter Ausschaltung des kleinen, carminhaltigen Kotstücks, das zwischen den Perioden lag. Denn die Tiere erhielten zu Beginn jeder neuen Periode früh morgens auf nüchternen Magen eine ganz kleine Nahrungsmenge mit einem großen Carminquantum. Erst 4 bis 5 Stunden später bekamen sie ihr eigentliches Futter für den betreffenden Tag. So gelang eine gute Abtrennung des Kotes für die einzelnen Perioden oder Periodenabschnitte und eine leichte Entfernung des Carmins aus dem Kote, ohne eine Störung der allgemeinen Versuchsergebnisse dadurch herbeizuführen.

Die Perioden in diesen Versuchen waren folgende: 1. Vorperiode (7 bis 8 Tage); 2. erste Eisenperiode (13 Tage); 3. Zwischenperiode ohne Eisenzulage (bei Hund 1: 21 Tage, bei Hund 2: 35 Tage); 4. zweite Eisenperiode (13 Tage); 5. Nachperiode ohne Eisenzulage (bei Hund 1: 27 Tage, bei Hund 2: 23 Tage).

Wie gesagt, in allen Perioden bekam jedes Tier täglich quantitativ und qualitativ genau die gleiche Nahrung mit genügendem Vitamin- und Mineralstoffgehalt. In den beiden Eisenperioden wurde dann dieser Nahrung täglich eine bestimmte Menge aktives Eisenoxyd zugelegt.

Hund 1 bekam vom 2. XI. bis 8. XI. täglich 0,051 g aktives Eisenoxyd, vom 8. XI. bis 14. XI. täglich 0,1 g, ebenso vom 6. XII. bis 20. XII. 0,1 g täglich. Hund 2 bekam vom 2. XI. bis 8. XI. 0,03 g, vom 8. XI. bis 14. IX. 0,06 g, vom 20. XII. bis 2. I. 0,06 g aktives Eisenoxyd.

Die Berechnung der durchschnittlichen täglichen N-Bilanz in jeder Periode geschah unter Zugrundelegung der Summen des Stickstoffs in der Nahrung, dem Kot und dem Harn einer Periode. Die Berechnung des Harnquotienten C : N im Periodenabschnitt wurde so vorgenommen, daß man die Summen für den Harn-C und den Harn-N jeder Periode durcheinander dividierte; die Berechnung der Harn-C- und Harn-N-Mengen im Periodendurchschnitt wurde durch Division jener Summen mit der Zahl der Tage einer jeden Periode gemacht.

Die Zwischenperiode wurde bei jedem Hunde so lange ausgedehnt, bis der durch die erste Eisenperiode veränderte Tagesquotient wieder annähernd den Quotienten in der Vorperiode erreicht hatte. Derselbe Gesichtspunkt war auch maßgebend für die Ausdehnung der Nach-

[1]) Die C-Analysen wurden in der Regel doppelt, in manchen Fällen, nämlich dann, wenn der Harn-C-Gehalt auffallend niedrig war, vierfach ausgeführt und hier auch noch mitunter obendrein durch die *Liebig-Dumas*-sche Elementaranalyse kontrolliert.

periode. So kam es auch, daß die Zwischen- und Nachperioden bei beiden Hunden verschieden lange Zeit dauerten.

Der ganze Versuch währte bei dem Hunde 1: 81 Tage, bei dem Hunde 2: 92 Tage.

Der Hund 1 mit dem durchschnittlichen Anfangskörpergewicht von 10230 g nahm vom Beginn der zweiten Eisenperiode bis zum Versuchsende etwa 300 g an Körpergewicht ab, also in einem Zeitraum von 40 Tagen; der Hund 2 dagegen mit dem Anfangsgewicht von 6300 g behielt dieses Gewicht während des ganzen Versuchs fast unverändert bei. Diese große Konstanz des Körpergewichts bei einer so beträchtlichen Versuchsdauer von rund 3 Monaten beweist, daß die Tiere eine in jeder Beziehung vollwertige Nahrung bekommen hatten. Täglich hatten die Tiere auch quantitativ ihr Nahrungsquantum verzehrt, niemals waren irgendwelche Verdauungsstörungen oder sonstige krankhafte Veränderungen bei den Tieren zu beobachten gewesen.

Wir betrachten zunächst den Stickstoffstoffwechsel. Bei beiden Hunden wird die N-Bilanz in der ersten Eisenperiode stärker positiv, als sie es in der Vorperiode gewesen war; bei beiden Hunden wächst in der Zwischenperiode zunächst noch weiter die Positivität der N-Bilanz. Gegen Ende dieser Zwischenperiode aber trennen sich nun die Erscheinungen, die beide Hunde weiterhin bieten.

Bei dem Hunde 1 hatte in dieser Zwischenperiode die N-Bilanz einen noch stärker positiven Wert gewonnen, als sie ihn in der ersten Eisenperiode erreicht hatte. In der nun folgenden zweiten Eisenperiode hatte sich die Positivität der N-Bilanz zunächst noch weiter verstärkt, war in der zweiten Hälfte dieser Periode wieder auf ungefähr den Wert der Zwischenperiode gefallen, hatte in der Nachperiode nach einem abermaligen starken initialen Anstieg unter Schwankungen schließlich am Ende wieder einen Wert, der wenig über demjenigen der Zwischenperiode lag, erreicht.

Bei diesem Hunde 1 kam es also unter der Einwirkung der ersten Eisengabe zu einer N-Retention, die sich als Nachwirkung nach Aussetzen der Eisenmedikation weiter verstärkte, bei der erneuten Eisengabe noch zunahm und als fortgesetzte Nachwirkung des Eisens auch später noch lange Zeit bestehen blieb.

Die Ursache dieser verstärkten N-Retention liegt zunächst und vor allen Dingen in einer Einschränkung der Eiweißoxydation. Denn wenn man den Prozentgehalt des resorbierten N (Nahrungs-N minus Kot-N) in jeder Periode berechnet, der wieder im Harn erscheint, der also umgesetzt worden ist, so findet man, daß mit der Verstärkung der Positivität der N-Bilanz eine Einschränkung im Umsatz des resorbierten Nahrungs-N ungefähr parallel geht (s. Tabelle V). Diese Einschränkung des Eiweißumsatzes ist auch im ersten Teil der ersten Eisenperiode die

Tabelle V.

Wieviel Prozent des resorbierten Nahrungs-N beträgt der Harn-N im Durchschnitt einer jeden Periode bei beiden Hunden?

Hund 1			Hund 2		
Periode	% N	N-Bilanz	Periode	% N	N-Bilanz
26. X. bis 1. XI.	87,8	+ 0,76	25. X. bis 1. XI.	80,0	+ 1,09
2. XI. „ 7. XI.	**85.6**	+ **0.84**	2. XI. „ 7. XI.	**78.9**	+ **1,31**
8. XI. „ 14. XI.	**85,7**	+ **0,91**	8. XI. „ 14. XI.	**75,2**	+ **1,56**
15. XII. „ 5. XII.	76,9	+ 1,47	15. XI. „ 7. XII.	70,6	+ 1,76
6. XII. „ 12. XII.	**65,8**	+ **2,37**	8. XII. „ 13. XII.	75,5	+ 1,51
13. XII. „ 19. XII.	**81,0**	+ **1,28**	14. XII. „ 19. XII.	89,3	+ 0,66
20. XII. „ 27. XII.	71.7	+ 1,93	20. XII. „ 27. XII.	**87,3**	+ **0,82**
28. XII. „ 3. I.	86,2	+ 0,93	28. XII. „ 1. I.	**92,5**	+ **0,46**
4. I. „ 15. I.	77,0	+ 1,58	2. I. „ 8. I.	96,8	+ 0,19
			9. I. „ 15. I.	84,6	+ 0,95
			15. I. „ 24. I.	78,2	+ 1,39

alleinige Ursache für die stärkere Positivität der N-Bilanz in dieser Zeit, denn die letztere trat hier auf trotz einer Verschlechterung der N-Resorption. Allmählich, und zwar von der zweiten Hälfte der ersten Eisenperiode an verbesserte sich aber die N-Resorption und wurde vor allem von Beginn der zweiten Eisenperiode an sehr erheblich vollständiger. Es tritt also ergänzend zu der Einschränkung des N-Umsatzes auch eine Vervollkommnung der N-Resorption aus der Nahrung, um die N-Retention in die Höhe zu treiben. Es verbinden sich also Wirkungen des aktiven Eisens auf den intermediären Umsatz mit Wirkungen auf die Resorption des Nahrungseiweißes. Nur ist es fraglich, ob wir es hier mit lokalen Wirkungen des Eisens auf die Darmschleimhaut zu tun haben, die diese Verbesserung der Resorption bewirken, oder ob die bessere Nahrungsausnutzung im Darm lediglich eine Folge des erhöhten Eiweißbedarfs des Organismus ist, wie das von *Bickel* (9) bei der Avitaminose beschrieben wurde.

Betrachten wir nun den Stickstoffstoffwechsel bei dem Hunde 2. Bis gegen das Ende der Zwischenperiode verlief er konform mit dem N-Stoffwechsel des Hundes 1. In der letzten Woche vor Beginn der zweiten Eisenperiode aber sank plötzlich der Wert der positiven N-Bilanz unter den Wert derselben in der Vorperiode. Zu Beginn der zweiten Eisenperiode fand zwar eine kleine Erhöhung statt, in der zweiten Hälfte der zweiten Eisenperiode aber sank der Wert wieder rapide, verminderte sich in der ersten Woche der Nachperiode noch weiter und erreichte hier mit + 0,19 einen Tiefstand, wie er ihn nie früher gehabt hatte. Dann aber setzte eine Erhöhung ein, die am Ende des Versuchs zu einem Wert für die positive N-Bilanz führte, der dicht bei den höchsten Werten lag, die sie bei dem Hunde je unter der Eisenwirkung erreicht hatte.

Bei diesem Hunde 2, bei dem das Körpergewicht, wie ich oben schon erwähnte, dauernd konstant blieb, stellte sich also als späte Nachwirkung der ersten Eisengabe eine Abschwächung der Positivität der N-Bilanz ein, die dann durch die abermalige Eisenmedikation in der zweiten Periode noch verstärkt wurde, aber dann als späte Nachwirkung doch schließlich wieder zu einer erheblichen Steigerung der Positivität der N-Bilanz hinführte. Welches die Gründe bei diesem Hunde für den Sturz der Positivität der N-Bilanz vom Ende der Zwischenperiode an über die zweite Eisenperiode hin bis tief in die Nachperiode hinein gewesen sind, mag vorläufig dahingestellt bleiben. Man könnte an eine Eisenüberdosierung denken, wenn nicht der Sturz schon am Ende der Zwischenperiode, also vor der zweiten Eisenmedikation begonnen hätte. Bei diesem Hunde war in den Eisenperioden die N-Resorption im Darm wesentlich besser als in der Vorperiode, in der Zwischen- und Nachperiode zwar nicht ganz so vollkommen, wie in den Eisenperioden, aber doch immer noch wesentlich besser als in der Vorperiode. Besonders auffallend ist der spärliche N-Gehalt des Kotes zu Beginn der zweiten Eisenperiode.

Bei der Berechnung des prozentigen Umsatzes des resorbierten N in den einzelnen Abschnitten des Versuchs zeigte sich, daß der N-Umsatz um so größer war, je niedriger die Positivität der N-Bilanz lag.

Bei diesem zweiten Hunde ist *die Größe der N-Retention* also genau so, wie bei dem ersten Hunde, *in erster Linie abhängig von der Größe des intermediären N-Umsatzes*; die Größe der N-Resorption steht mitunter nur in lockerer, in einzelnen Versuchsabschnitten aber in gar keiner Beziehung zur Lage der Positivität der N-Bilanz. Denn bei annähernd gleichen Kot-N-Werten kann die N-Bilanz eine ganz verschiedene Lage haben, und bei erniedrigter N-Bilanz kann der Kot-N ganz besonders niedrige N-Werte aufweisen.

Als Ergebnis der Untersuchungen über den N-Stoffwechsel bei beiden Hunden buchen wir folgendes: *bei beiden Hunden stellte sich unter dem Eindruck der ersten Medikation vom aktiven Eisen eine verstärkte Stickstoffretention ein, die bei dem Hunde 1 in der folgenden Zwischenperiode und der darauf folgenden zweiten Eisenperiode noch weiter zunahm, um auch in der Nachperiode unter gewissen Schwankungen, bei denen aber nie der niedrige Wert der Vorperiode erreicht wurde, bestehen zu bleiben, während bei dem zweiten Hunde vom Ende der Zwischenperiode über die zweite Eisenperiode hin bis in die Nachperiode hinein die Stickstoffretention sich unter den Wert der Vorperiode erniedrigte, um erst als späte Nachwirkung am Ende der Nachperiode wieder einen im Vergleich zur Vorperiode gesteigerten Wert zu erreichen. In allen Fällen liegt der Steigerung oder der Senkung der Stickstoffretention eine Einschränkung*

oder Steigerung im intermediären Eiweißumsatz zugrunde. Es wirkt mithin das aktive, Baudischsche (4) Eisenoxyd in erster Linie und in der Regel umsatzhemmend auf das Eiweiß, ausnahmsweise aber auch einmal, und zwar als Spätwirkung und bei erneuter Eisengabe umsatzsteigernd auf das Eiweiß.

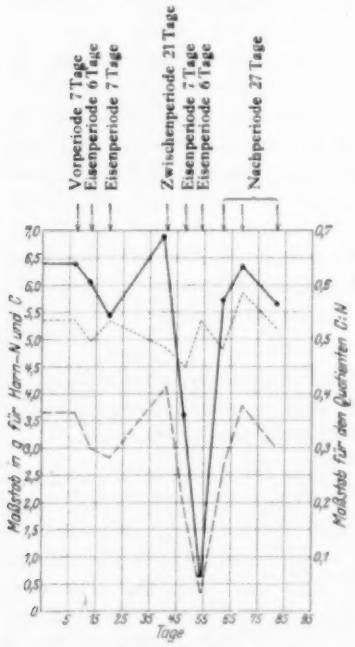


Abb. 1. Hund 1.
—— C:N.
----- Harn-C, absol. Werte.
····· Harn-N, absol. Werte.

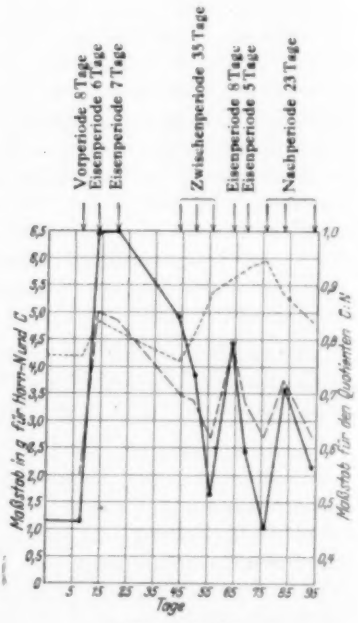


Abb. 2. Hund 2.
—— C:N.
----- Harn-C, absol. Werte.
····· Harn-N, absol. Werte.

Wir wenden uns nunmehr der Betrachtung des *Kohlenstoffumsatzes* zu, soweit er aus dem Verhalten des Kot-C und des Harn-C erkannt werden kann.

Bei dem Hunde 1 war die C-Ausnutzung der Nahrung nur in dem ersten Teil der ersten Eisenperiode etwas verschlechtert im Vergleich zur Vorperiode, sonst war sie immer bedeutend besser und hielt sich während des ganzen übrigen Versuchs auf ungefähr gleicher Höhe. Beim Hunde 2 war die C-Ausnutzung der Nahrung verbessert vom Beginn der ersten Eisenperiode und zeigte während der übrigen Versuchszeit nur unbedeutende Schwankungen.

Aus alledem ergibt sich, daß unter dem Eindruck der Gabe von aktivem Eisenoxyd die Kohlenstoffresorption im Darm ebenso begünstigt wird, wie die Stickstoffresorption.

Der *Harnkohlenstoff* zeigte folgendes Verhalten. Beim Hunde 1 tritt jedesmal während der Eisenmedikation eine Verminderung des dysoxydablen Harn-C auf, die besonders hochgradig in der zweiten Eisenperiode ist. Die C-Werte in der Zwischen- und Nachperiode liegen in der Nähe des C-Wertes der Vorperiode.

Der Hund 2 läßt im diametralen Gegensatz zum Hunde 1 in den ersten Eisenperioden und zum Teil auch noch in der Zwischen- und Nachperiode eine deutliche Steigerung in den Werten für den dysoxydablen Harn-C erkennen.

Wenn die Menge des dysoxydablen Harnkohlenstoffs in Beziehung zur Qualität und Quantität der intermediären Oxydation der C-haltigen Substanz steht, dann müßte man annehmen, daß der Hund 1 diese Substanz unter dem Einfluß des Eisens besser, der Hund 2 aber schlechter oxydiert hat. Bei dem Hunde 1 kann aber von der C-haltigen Substanz nur die N-freie Substanz dann besser oxydiert worden sein, weil der Hund 1, wie oben gezeigt wurde, während des ganzen Versuchs eine im Vergleich zu der Menge des jeweils resorbierten Eiweißes verminderte Menge Eiweiß umgesetzt hat. *Mit anderen Worten: der Hund 1 kann unter der Wirkung der Gabe des aktiven Eisenoxyds und als Nachwirkung derselben nur Fett und Kohlehydrat in verstärktem Maße, Eiweiß aber in vermindertem Umfange oxydiert haben.*

Unter der obigen Voraussetzung aber müßte der Hund 2, der als Folge der Eisenmedikation die gesteigerte Ausscheidung von dysoxydablem Kohlenstoff erkennen ließ, die C-haltige Substanz im intermediären Stoffwechsel schlechter oxydiert haben, als in der Vorperiode. Der Verlauf des N-Stoffwechsels bei diesem Hunde zeigt aber, daß sich nach einer anfänglichen Bremsung des Eiweißumsatzes in der ersten Eisenperiode und bis tief in die Zwischenperiode hinein vom letzten Teil der Zwischenperiode über die zweite Eisenperiode und bis tief in die Nachperiode hinein verstärkter Eiweißumsatz geltend macht. Bei diesem Hunde 2 kann also die Hemmung in der Oxydation nur im ersten Teil des Versuchs die gesamte C-haltige Substanz betroffen haben, darum sind vielleicht auch die Harn-C-Werte in der ersten Eisenperiode so exorbitant hoch, dann aber kann im späteren Verlauf der Eisenwirkung, natürlich vom Ende der Zwischenperiode an nur noch die Oxydation von Fett und Kohlehydrat eine Hemmung erfahren haben, weil hier der dysoxydable Kohlenstoff zwar auch noch im Vergleich zur Vorperiode vermehrt war, aber der N-Umsatz nachweislich eine gewaltige Erhöhung erfahren hatte.

Alle diese Betrachtungen führen zu folgendem Schlusse. Das aktive Eisenoxyd greift in die Oxydation und in den intermediären Stoffwechsel ein. Es wirkt vor allen Dingen hier zunächst hemmend auf die Eiweißoxydation. Folgt dieser oxydativen Hemmung am Eiweiß eine kompensatorische Steigerung der Oxydation am Fett und Kohlehydrat, so besteht die Eiweißumsatzeinschränkung beliebig lange Zeit fort (Verhalten des Hundes 1). Greift aber die Oxydationshemmung am Eiweiß auch auf das Fett und Kohlehydrat über und blockiert hier bis zu einem gewissen Grade den Umsatz, dann steigt der Eiweißumsatz allmählich kompensatorisch an (Verhalten des Hundes 2). Da gerade bei dem Hunde 2, bei dem die letztgenannten Verhältnisse vorlagen, das Körpergewicht während des ganzen Versuchs eine wunderbare Konstanz zeigte, muß sich bei der vorhanden gewesenen Einspannung des Stoffwechsels bei diesem Tier in ein bestimmtes Nahrungsquantum das gegenseitige Verhältnis im Umsatz der drei organischen Hauptnahrungsmittel in sehr präziser Weise eingestellt haben, damit keine Verluste an Körpersubstanz auftraten.

Die *Steigerung des Eiweißumsatzes*, die nach der Eisenmedikation bei diesem Hunde 2 auftrat, *ist aber nur ein ausnahmsweise auftretendes Ereignis*.

In vier Eisenversuchen haben wir dreimal die Hemmung der Eiweißoxydation während und im Anschluß an die Eisenmedikation gesehen, nur einmal entwickelte sich als Spätwirkung die Steigerung der Eiweißoxydation, die dann bei erneuter Eisengabe zunächst eine leichte Bremsung, dann aber eine forcierte Steigerung bis in die Nachperiode hinein erfuhr.

Schließlich kam es aber auch in dieser Nachperiode, man möchte sagen als letzte Auswirkung, doch wieder zu einer *erheblichen Bremsung der Eiweißoxydation*.

Die Hemmung der Eiweißoxydation bei Steigerung der Kohlehydrat-Fett-oxydation oder auch bei gleichzeitiger Hemmung dieser letzteren, das ist wohl die gewöhnliche Folge der Wirkung des aktiven Eisenoxyds auf den intermediären Stoffwechsel.

Auch bei auf das Körpergewicht berechneter gleicher Dosierung haben wir es nicht in der Hand, wie der Ausfall dieser vier Versuche an zwei Hunden zeigt, eine identische Wirkung in allen Fällen zu erzielen. Der Grund hierfür ist vielleicht in individuellen Verschiedenheiten im Oxydationsvermögen zu suchen, die sich besonders stark auswirken, wenn der Stoffwechsel durch die Nahrungslimitierung eine gewisse Einengung erfährt.

Wenn aber, wie es aus unseren Versuchen an den beiden Hunden hervorgeht, in einer derartig variablen Weise einzelne Quoten der

organischen Substanz in ihrer Oxydation durch das aktive Eisen beeinflußt werden können, dann wird auch die Untersuchung des Lungengaswechsels kaum eindeutige und immer übereinstimmende Ergebnisse liefern.

Bei dem *Arnoldi*schen Rattenversuch, den wir oben besprachen, kompensierte offenbar während der Medikation des aktiven Eisens die Hemmung in der Eiweißoxydation die Steigerung in der Fett-Kohlehydratoxydation. Darum blieb in dieser Zeit der O_2-Verbrauch und der respiratorische Quotient normal. Die Steigerung des O_2-Verbrauchs bei normalen respiratorischen Quotienten in der Nachperiode aber ist wohl auf ein Überwiegen der Steigerung der Kohlehydrat-Fettoxydation über die Hemmung der Eiweißoxydation zu beziehen.

Die Steigerung der Eiweißoxydation im zweiten Abschnitt der Vorperiode bei Hund 2 erklärt sich vielleicht aus der Beobachtung *Arnoldis*, daß Gaswechselstörungen, die bei der Untersuchung der Respirationsluft nachweisbar sind, erst spät nach Aussetzen der Eisenmedikation auftreten können.

Endlich sei noch ein Wort zu der Lage der *Harnquotienten C : N* in unseren Versuchen gesagt! *Ihre Lage wird primo loco durch die Größe der C-Ausscheidung, secundo loco durch die Größe der N-Ausscheidung bei beiden Hunden bestimmt.*

Darum sinken die Quotienten bei dem Hunde 1 in den Eisenperioden und erheben sich erst in den Nachperioden oder auch dann nicht einmal über den Wert der Vorperiode. Darum steigen die Quotienten bei dem Hunde 2 während der beiden Eisenperioden, besonders natürlich während der ersten Eisenperiode, an und behalten allerdings mit Schwankungen den erhöhten Wert auch noch lange Zeit in der Zwischen- und Nachperiode.

Beim Hunde 2, bei dem wir eine Bremsung der Fett- und Kohlehydratoxydation zunächst neben der Eiweißoxydation, später aber bei Steigerung der letzteren glaubten annehmen zu müssen, findet sich die Erhöhung des Quotienten, während beim Hunde 1, bei dem wir die starke Steigerung in der Fett-Kohlehydratoxydation vermuteten, bei Bremsung der Eiweißoxydation sich die Senkung des Quotienten findet. So weisen diese Versuche darauf hin, daß durch Oxydationshemmung und Oxydationsförderung an der N-freien Substanz der Quotient gleichsinnig beeinflußt wird, wie bei Oxydationshemmung und Oxydationsförderung am Eiweiß: nämlich daß die Oxydationshemmung im allgemeinen zur Quotientenerhöhung, die Oxydationssteigerung aber zur Quotientsenkung führt.

Schlußsätze.

1. Das nach der *Baudisch*schen Methode hergestellte aktive Eisenoxyd ruft in der Regel beim Hunde eine Stickstoffretention hervor, die in erster Linie durch eine Einschränkung der Eiweißoxydation im

intermediären Stoffwechsel, in zweiter Linie auf einer besseren Ausnutzung der Nahrung im Darm beruht.

2. Dieses Eisenoxyd läßt ferner Wirkungen auf den Fett- und Kohlehydratstoffwechsel erkennen, wobei aber die Oxydationen in verschiedenen Richtungen verlaufen können.

3. Diese Wirkungen des aktiven Eisenoxyds sind in erster Linie an die Nahrungsverwertung geknüpft.

Literatur.

1) *H. Wada*, diese Zeitschr. **175**, 62, 1926. — 2) *A. Bickel-Gleichmann-Taslakowa*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **54**, 87, 1927. — 3) *Rubner*, Der Stoffverbrauch beim hungernden Pflanzenfresser, Zeitschr. f. Biol. **17**, 1881. — 4) *Baudisch-Welo*, Die Naturwissenschaften, 13. Jahrg., H. 36. J. Springer, Berlin 1925. — 5) *Arnoldi*, nach dem Manuskript zitiert, erscheint in dieser Zeitschr. 1927. — 6) *Gomez*, diese Zeitschr. **167**, 424, 1926. — 7) *Tangl-Kereszty*, ebendaselbst **32**, 266, 1911 — 8) *Poda*, Hoppe-Seylers Zeitschr f. physiol. Chem. **25**, 355, 1898. — 9) *A. Bickel*, diese Zeitschr. **166**, 251, 1925.

Die Umstimmung pharmakologischer Wirkungen, insbesondere autonomer Nervenendgifte durch oberflächenaktive Stoffe.

Von

L. Asher und **N. Scheinfinkel.**

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 28. März 1927.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

In einer Reihe von Arbeiten, die unter der Leitung des einen von uns ausgeführt worden sind, wurde gezeigt, daß die vaguslähmende Wirkung von Atropin auf das Herz unter dem Einfluß von Cholaten genau in das Gegenteil umgekehrt wurde, indem jetzt nach Zusatz von Atropin die Erscheinungen intensiver Vagusreizung beobachtet wurden. Es handelt sich in diesem Falle um eine echte Umkehrwirkung, noch dazu bei einer pharmakologischen Substanz, deren einseitige Wirkung zu den wohl definiertesten zu gehören schien. Diese echte Umkehr steht im Gegensatz zu der Erscheinung, daß ein und dieselbe Substanz zwei verschiedene, entgegengesetzte Wirkungen haben kann, jedoch die eine unter den gewöhnlichen Bedingungen dominiert. Es kann dann durch selektive Lähmung dieser einen die andere sonst unterdrückte zum Vorschein kommen.

Die Umkehr der Atropinwirkung zu einer positiv vagotropen im Sinne der Erregung ist so merkwürdig und vielleicht auch für das Verständnis pharmakologischer Wirkungen im allgemeinen so beachtenswert, daß der Versuch gemacht werden mußte, dieselbe aufzuklären. Es handelte sich darum, ausgehend von den Cholaten, die etwaigen Eigenschaften derselben ausfindig zu machen, welche für die Umkehrwirkung verantwortlich gemacht werden könnten. Der eine von uns[1]) hat die Vermutung ausgesprochen, daß möglicherweise die starke Kapillaraktivität, durch welche gerade die Cholate ausgezeichnet sind, hierfür verantwortlich sei. Diese Vermutung hat sich, wie in der nachfolgenden Arbeit gezeigt werden soll, bestätigt.

[1]) *L. Asher*, Schweiz. Med. Wochenschr. **38**, 1926.

Der Plan unserer Arbeit war, andere passende Stoffe von hoher Kapillaraktivität heranzuziehen, um deren Einfluß auf die Atropinwirkung auf das Herz zu prüfen. Da unsere ersten früheren Untersuchungen mit Leberperfusaten und Leberextrakten gemacht worden waren, benutzten wir auch die Gelegenheit, andere Organextrakte auf ihre Wirkung auf den Atropinerfolg zu untersuchen. Wir wollen gleich hier bemerken, daß andere Organextrakte, als diejenigen der Leber, Atropin nicht umzukehren vermochten, was wir auch erwartet hatten, seitdem wir erkannt hatten, daß die Umkehr spezifisch an den Cholaten haftet. Wir dehnten unsere Untersuchungen auch auf das Gegenstück des Atropins, nämlich das Ergotamin aus, welches die sympathisch fördernden Nerven des Herzens unter gewöhnlichen Bedingungen anscheinend selektiv lähmt.

Die Untersuchungen wurden am Froschherzen, in das eine Symeskanüle eingebunden war, ausgeführt. Gelegentlich kam die von *Kahn* beschriebene Doppelkanüle zur Anwendung. Methodische Besonderheiten werden anläßlich der einzelnen Versuche erwähnt werden.

Die erste neue Substanz, deren Einfluß auf die Wirkung von Atropin auf das Froschherz wir untersuchten, war der *Caprylalkohol*, der wegen seiner hohen Kapillaraktivität methodologisch beispielsweise bei der *van Slyke*schen Gasanalyse Verwendung findet. Zu Beginn jedes Versuchs wurde der Einfluß von Atropin auf das Froschherz im Normalzustande festgestellt. Die Atropindosen, die wir benutzten, waren 0,002 und 0,02%. Wir haben mit diesen Konzentrationen mit den Bedingungen unserer Anfangsversuche nur entweder Verstärkung und Beschleunigung, oder Gleichbleiben des Herzschlages beobachtet. Nach Anwendung von Caprylalkohol passender Konzentration war ausnahmslos die Atropinwirkung eine andere. Caprylalkohol für sich allein wirkt je nach der Konzentration entweder fast gar nicht oder abschwächend auf den Herzschlag ein. Die einzelnen Herzen verhalten sich in dieser Beziehung verschieden, und verschieden ist auch die Konzentration, bei welcher die Umkehrwirkung eintritt. Wir haben dieselbe schon gesehen, wenn auch selten, bei einer Verdünnung des Caprylalkohols 1 : 1000000, fast regelmäßig, wenn die Verdünnung 1 : 100000 bis 1 : 50000 war. Es empfiehlt sich nicht, unter Konzentrationen von 1 : 10000 zu gehen, weil dann das Herz schon stark geschädigt wird.

Von unseren zahlreichen Versuchen wollen wir nur zwei Beispiele geben. Abb. 1 und 2. (Versuch vom 16. und 19. Oktober 1926.)

In dem Versuch, von dem Abb. 1 einen Ausschnitt darstellt, stand das Herz unter der Einwirkung von Caprylalkohol 1 : 100000, bei der Zahl 25 wird Atropin 0,002% in Ringerlösung zugesetzt und man sieht die allmählich eintretende, stark negativ inotrope Wirkung auf die Kammer-

kontraktion. Bei 26 wird mit Ringerlösung ausgewaschen. In Abb. 2 schlägt das Herz kräftig im Anfang unter der Einwirkung von Caprylalkohol 1 : 10000, bei 16 tritt unter dem Einfluß von 0,20% Atropin eine sehr starke Abnahme der Kammerkontraktion ein. In mehreren Versuchen

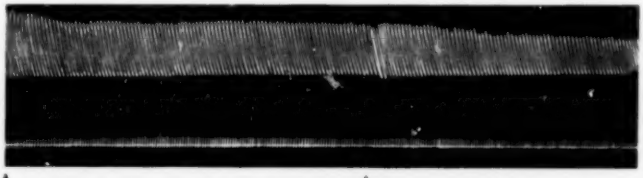


Abb. 1.

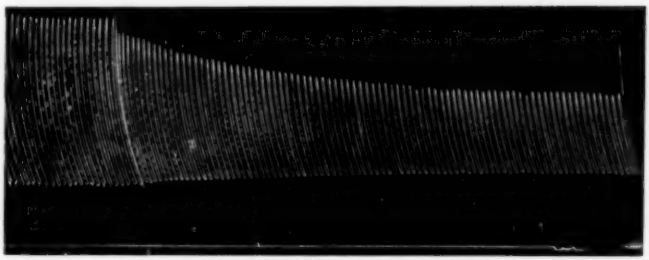


Abb. 2.

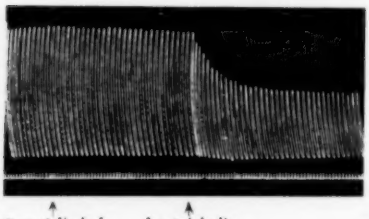
haben wir, genau wie wir das früher bei den Cholaten beobachtet haben, nach Atropinzusatz es praktisch bis zum fast vollständigen, aber reversiblen Aufhören des Herzschlages kommen sehen.

Unsere zahlreichen Versuche haben ergeben, daß Caprylalkohol in der richtigen Konzentration ein unfehlbares Mittel ist, die Atropinwirkung umzukehren. Schon der Umstand, daß chemisch die Cholate und der Caprylalkohol sehr verschieden gebaut, in der physikalisch-chemischen Eigenschaft jedoch der hohen Kapillaraktivität sehr ähnlich sind, spricht für die ursächliche Bedeutung des letzteren Moments.

Auch die Erfahrung, die wir mit einigen anderen Stoffen gewonnen haben, spricht zugunsten dieser Annahme. Wir haben nämlich eine Reihe von Versuchen mit Isobutyl- und Amylalkohol angestellt. Diese beiden Alkohole sind, wie sie an Kohlenstoffatomen ärmer sind, auch weniger kapillaraktiv als der Caprylalkohol. Von den beiden erstgenannten Alkoholen konnten wir bis zu Konzentrationen von 1 : 100 anwenden und haben niemals die geringste Andeutung von Umkehrwirkung des Atropins danach gesehen, weshalb wir füglich auf Kurvenbeispiele verzichten. Um sicher zu gehen, haben wir am Ende einer derartigen Versuchsreihe Caprylalkohol gegeben und darauf Atropin folgen lassen. Hier gab Atropin, wie in den früheren Versuchen, deutlich die Wirkungen einer negativ inotropen Vagus-

erregung. Auch der Zimtalkohol erwies sich nicht geeignet, um Atropin umzukehren.

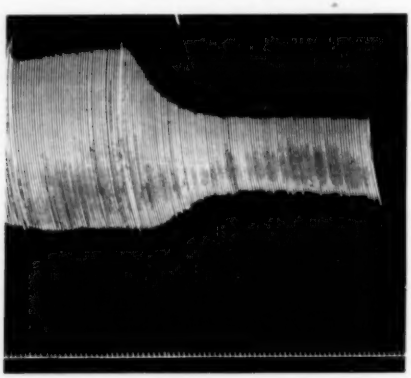
Wir hatten in unseren früheren Arbeiten zeigen können, daß die Cholate die vaguserregende Wirkung von Acetylcholin in hohem Maße zu antagonisieren vermögen. Eine Umkehrwirkung liegt hier freilich nicht vor, vielmehr handelt es sich um folgendes: Die Cholate vermögen selbst in der physiologischen Konzentration im Sinne sympathisch fördernden Einflusses zu wirken. Dementsprechend wird die Acetylcholinwirkung unterdrückt. In einer Reihe von Versuchen, in denen wir Caprylalkohol gaben, sahen wir danach keine Beeinflussung der vorher ausgeprobten Wirkung von Acetylcholin, wie Abb. 3 aus dem Versuch vom 20. Oktober 1926 zeigt, wo im Anfangsteil die Herzschläge unter Caprylalkohol 1 : 25000 dargestellt sind, worauf nach Zusatz von Acetylcholin 1 : 15000 dieselbe Wirkung wie früher eintritt. Nach allen unseren bisherigen Erfahrungen können wir ganz allgemein sagen, daß die Umkehrwirkung infolge kapillaraktiver Stoffe nur bei *hemmenden* Giften klar ausgesprochen ist. Dies ist für die Theorie der Erscheinungen nicht ohne Bedeutung.



Caprylalkohol Acetylcholin

Abb. 3.

Von Derivaten der Gallensäure sind uns seit unserer ersten Veröffentlichung eine Reihe von anderen zur Verfügung gestellt worden, unter anderem das Decholin, sowohl von der Firma Boehringer, Hamburg, wie



Decholin 0,4 % Atropin 0,02 %

Abb. 4.

Riedel, Berlin, wofür wir auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen. Das Decholin wird wegen seiner geringeren Giftigkeit neuerdings therapeutisch verwertet. Uns interessiert hier die Frage des Einflusses auf

Atropin. Abb. 4 zeigt den typischen Ausfall. Decholin in einer Konzentration von 0,4% hat keinen merklich schädlichen Einfluß auf das Herz. Bei Zusatz von 0,02% Atropin tritt rasch die stark negativ inotrope Wirkung ein.

Weitere kapillaraktive Stoffe, die wir angewandt haben, waren Chinin und Optochin und Eucupin. Auch diese Stoffe kehrten die Wirkung von Atropin um, allerdings waren hierzu starke Konzentrationen erforderlich. Da diese Produkte in höheren Konzentrationen das Herz schädigen können, ist es geraten, ehe man die Wirkung von Atropin prüft, vorher das Herz einmal mit Ringerlösung auszuwaschen. Darauf tritt nach Atropinzusatz sehr deutlich die negativ inotrope Wirkung auf (Abb. 5).

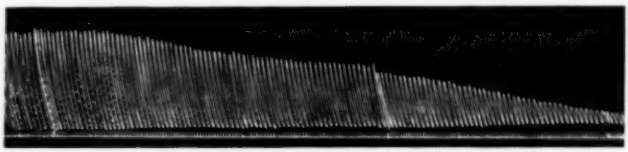


Abb. 5.

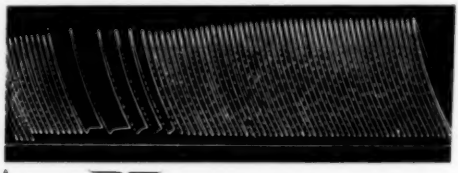
Über unsere Versuche mit Organextrakten können wir kurz berichten. Wir haben Nieren und Gehirnextrakte als lipoidreiche Mischungen benutzt, ferner Hodenextrakt und schließlich auch Milz. In keinem Falle sahen wir die geringste Andeutung einer Umkehrwirkung des Atropins.

So interessant die Tatsache sein mag, daß gewisse hochkapillaraktive Stoffe die Wirkung von Atropin umzukehren vermögen, so würde diese tiefgreifende Modifikation doch an Bedeutung gewinnen, wenn sie nicht ein isolierter Fall wäre. Um in dieser Beziehung vorwärts zu kommen, dehnten wir unsere Untersuchungen auf das Ergotamin aus, dessen Wirkung bei richtiger Dosierung und unter Innehaltung bestimmter Bedingungen darin besteht, daß bei Reizung des Vagus des Frosches der eigentliche Vaguserfolg immer reiner zutage tritt, jede Miterregung aber der sympathisch fördernden Fasern ausbleibt, weil dieselben durch Ergotamin gelähmt werden. Durch die Güte von Sandoz & Co. in Basel stand uns reines Ergotamintartrat zur Verfügung.

Unsere Versuche verliefen methodisch, sinngemäß etwas abgeändert als diejenigen bei der Untersuchung der Atropinwirkung. In der im Berner Institut üblichen Weise wurden die Nervi vagi präpariert, ehe das mit dem Kopfteil in Verbindung stehende Herz an die Kanüle kam. Die Vagi wurden mit Hilfe des auf niedrige Frequenz (8) eingestellten Klangstabunterbrechers und dem *Kronecker*schen Induktionsapparat gereizt. Nachdem der Erfolg verschieden starker Vagusreizungen festgestellt worden war und wir uns von einer hohen normalen Vaguserregbarkeit überzeugt hatten, schritten wir zur Ergotaminvergiftung. Dieselbe führte in bekannter Weise zu einer größeren Anspruchsfähigkeit des Vagus hinsichtlich seiner negativ inotropen Wirksamkeit und zu einem völligen Verschwinden jeder Andeutung einer Acceleransreizung. Dabei berücksichtigen wir nur solche Versuche, wo die Ergotaminvergiftung im übrigen das Herz in einem guten Zustand beließ. Wir haben bei anderer Gelegenheit darauf hin-

gewiesen, daß nicht jederzeit ein mit Ergotamin vergiftetes Herz für feinere Analysen brauchbar ist. Sobald wir Caprylalkohol, welcher sich in den Atropinversuchen so bewährt hatte, in den gleichen niedrigen Konzentrationen verwandten, änderte sich das Bild.

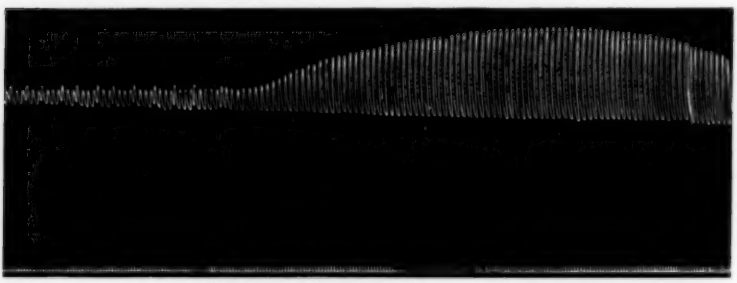
Die Erscheinungen, welche nach Zusatz von Caprylalkohol wie auch Cholaten zur Beobachtung kommen, sind zweierlei Art. Der bloße Zusatz von Ergotamin bewirkt, wenn er nicht eine gewisse negativ inotrope Schlagfolge herbeiführt, an und für sich nichts. Erst wenn man die Vagi reizt, kommt die tiefgreifende Veränderung zum Vorschein. Erstens kann zunächst eine Vaguswirkung eintreten. Aber nach Schluß dieser Vagusreizung kommt es zu einer ausgesprochenen Acceleranswirkung, von welcher vorher unter dem bloßen Einfluß von Ergotamin nicht die geringste Andeutung mehr da war (Abb. 6).



Vagusreizung
Ergotamin nach Caprylalkohol

Abb. 6.

Die starke Acceleranswirkung ist um so bemerkenswerter, als wir mit einer Reizfrequenz reizten, bei welcher selbst ohne Ergotamin gewöhnlich keine Erregung des Accelerans erfolgt.



Vagusreizung
Ergotamin nach Caprylalkohol

Abb. 7.

Der andere, fast noch demonstrativere Fall besteht darin, daß die Herzschläge, welche durch erneute Zufuhr von Ergotamin nach vorausgehender Behandlung mit Caprylalkohol klein geworden sein können, unter dem Einfluß der Vagusreizung immer größer und größer werden (Abb. 7).

Die hier abgebildete Kurve könnte ebensogut als typisches Bild einer isolierten Acceleransreizung gelten, die man nur erhält, wenn man besondere experimentelle Maßnahmen trifft, um jede Beteiligung des Vagus auszuschließen. Wir haben Fälle, wie die Abb. 7 zeigt, mehrfach nach Behandlung des Herzens mit Caprylalkohol und Ergotamin gesehen, und es sind dies Fälle, welche am schönsten die Umkehr der Ergotaminwirkung durch einen kapillaraktiven Stoff demonstrieren.

Wir haben zeigen können, daß zwei typische Gifte des autonomen Nervensystems, das eine ein lähmendes für einen parasympathisch hemmenden Nerven, das andere ein lähmendes für einen sympathisch fördernden Nerven, durch kapillaraktive Stoffe in ihrer Wirkung gegenüber dem, was man die Norm bezeichnet, umgekehrt werden. Der Zusammenhang mit der Kapillaraktivität ist so offenkundig, daß er vorbehaltlich weiterer Erfahrungen anerkannt werden dürfte. Es erhebt sich nun die wichtigere Frage, inwiefern hohe Kapillaraktivität so auffallende Umkehrwirkungen auszulösen vermag. Man wird zunächst daran denken, daß die oberflächenaktiven Stoffe sich an den Oberflächen anhäufen, die für die hier betrachteten Wirkungen von Bedeutung sind. Aber die Tatsachen, die wir beobachtet haben, sind nicht derart, daß man mit der Annahme einer etwaigen Verdrängung viel zu erklären hoffen darf. Wenn Atropin und Ergotamin in ihrer Wirksamkeit bloß aufgehoben würden, dann könnte man diese Erscheinung durch Verdrängung erklären. Aber es handelt sich ja um etwas ganz anderes. Beide Gifte, die vorher lähmend waren, werden jetzt dem physiologischen Mechanismus nach zu erregenden bzw. erregungsfördernden, hierin liegt das Gemeinsame der Erscheinungen. Auch die Annahme, daß die Besetzung der Oberfläche mit einem kapillaraktiven Stoff Atropin und Ergotamin anreichert, ist vollständig unbefriedigend, denn eine bloße Vermehrung von Atropin und Ergotamin führt keinesfalls zu den von uns beobachteten Umkehrerscheinungen. Wir müssen uns vorläufig mit der negativen Seite des Problems begnügen. Um in positiver Weise Aussagen machen zu können, bedarf es weiterer experimenteller Erfahrungen, die mit Hilfe der hier gewonnenen Ergebnisse von einer neuen Seite her den verwickelten Mechanismus der Erregung namentlich vermittelst pharmakologischer Stoffe aufklären sollen.

Nach einer anderen Richtung hin sind die mitgeteilten Befunde beachtenswert. Sie zeigen, daß unsere Klassifikation der Wirkung pharmakologischer Stoffe nur innerhalb gewisser Grenzen eine zutreffende ist. Die Wandelbarkeit pharmakologischer Wirkungen ist zwar eine anerkannte Tatsache, aber man hat bis jetzt keine Veranlassung gehabt, sie auf bisher anscheinend sowohl definierte Typen wie Atropin und Ergotamin auszudehnen. Auch deren Wirkungen fallen jetzt unter den Begriff der Stimmung; je nach der Stimmung kann die Wirkung die eine, aber auch die entgegengesetzte sein. Daß gerade kapillaraktive Stoffe an dem, was wir als Stimmung bezeichnen, so hervorragend beteiligt sind, hat nicht allein für die Physiologie, sondern auch für die Pathologie Interesse. Unter pathologischen Bedingungen ist mannigfach Gelegenheit gegeben, daß kapillaraktive Stoffe dort auftreten, wo sie den physiologischen Mechanismus, das biochemische Geschehen und die pharmakologische Wirksamkeit tiefgreifend verändern.

Zusammenfassung.

1. Es wurde gezeigt, daß nicht bloß Cholate, sondern auch andere kapillaraktive Stoffe, wie Caprylalkohol und gewisse Chinin-

derivate, Atropin zu einem stark vaguserregenden Mittel umkehren können.

2. Anderen Organextrakten, außer denjenigen der Leber, kam eine umkehrende Wirkung auf Atropin nicht zu.

3. Nach Zusatz von kapillaraktiven Stoffen bewirkt die Behandlung des Froschherzens mit Ergotamin, daß die Vagusreizung jetzt zu einer ausgesprochenen Erregung des vorher allein durch Ergotamin gelähmten Accelerans führt.

4. Die theoretische Bedeutung der beobachteten Umkehrwirkungen wird, soweit dies zurzeit möglich ist, analysiert.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 107.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica. Die Blockierung der normalen Reaktion durch die intraperitoneale Injektion von destilliertem Wasser.

Von

George M. Curtis.

(Department of Surgery, University of Chicago.)

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Douglas Smith Foundation for Medical Research der Universität Chicago ausgeführt.)

(Eingegangen am 28. März 1927.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

In einer vorausgehenden Arbeit habe ich[1]) durch ein neues Verfahren die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica aufklären können. Es wurde damals gezeigt, daß durch Injektion einer isotonischen oder leicht hypotonischen Zuckerlösung in das Peritoneum die Wirkung eines spezifischen Diureticums aufgehoben werden konnte. Die weitere Analyse dieses Ablenkungsversuchs führte zu der Folgerung, daß der erste wesentliche Faktor für die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica der Übertritt von Elektrolyten, insbesondere Chloriden, in das Blut sei, unter der Voraussetzung von sonst physiologischen Bedingungen des Gesamttieres und der Niere und dem Vorhandensein mobilisierbaren Wassers. Diese Aufklärung der Wirkungsweise der spezifischen Diuretica gewährte auch neue Einsichten in das Zustandekommen der normalen Diurese.

In der nachfolgenden Arbeit sollen die Ergebnisse der Ablenkungsmethode durch eine sinngemäße Abänderung erweitert und vertieft

[1]) *George M. Curtis*, diese Zeitschr. **163**, 112, 1925.

werden. Dadurch, daß eine Rohrzuckerlösung in die Bauchhöhle gebracht wird, kommt es in späteren Phasen des Versuchs zu einer sekundären Diurese, weil der allmähliche Übertritt von Zucker in das Blut einen neuen chemischen Faktor einführt, der wiederum einen Einfluß auf die Harnabsonderung gewinnt. Dadurch kommen die Folgen der Ablenkung nicht ganz rein zum Ausdruck. Ich habe daher in den Versuchsreihen, über welche diese Arbeit berichtet, anstatt Zuckerlösung destilliertes Wasser in die Bauchhöhle injiziert. Die Injektion von destilliertem Wasser sollte außerdem dazu dienen, das Gefälle zwischen Elektrolytgehalt des Blutes und der Peritonealflüssigkeit maximal zu gestalten.

Die Injektion von destilliertem Wasser in die Bauchhöhle könnte außer den soeben geschilderten Einflüssen noch andere Wirkungen haben, die bei der kritischen Verwertung der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. In erster Linie war an die Reizwirkung auf zentripetale Nerven zu denken mit ihren Folgen. Eine zweite nachfolgende Arbeit wird sich mit diesem Problem beschäftigen, hier sei nur kurz erwähnt, daß es gelungen ist, zu zeigen, daß die angedeuteten Bedenken gegen die Einführung von destilliertem Wasser gegenstandslos sind.

Die von mir benutzten Methoden waren im wesentlichen die gleichen meiner früheren Arbeit. Es wurden nur männliche Kaninchen benutzt. Die Mehrheit der Versuche wurde an zwei Kaninchen, die etwa 2,3 kg wogen, ausgeführt. Zum Zwecke der Kontrolle, der ausgedehnteren Prüfung des Einflusses der intraperitonealen Injektion von destilliertem Wasser auf die normale Euphyllinwirkung, wurden noch vier andere Kaninchen benutzt, die zwischen 2,4 und 3,7 kg wogen. Dieselben waren früher von Dr. *Raulston* bei seinen Untersuchungen über den Einfluß des allergischen Zustandes auf die Diurese[1]) gebraucht worden. Alle diese Tiere reagierten sehr gut auf Euphyllin. Ich bin Herrn Dr. *Raulston* für die Möglichkeit, seine Tiere zu Kontrollversuchen zu benutzen, zu Dank verpflichtet.

Das Euphyllin (Theophyllin-Äthylendiamin) (auch an dieser Stelle möchte ich den Gulden-Byk-Werken für die liberale Überlassung von Euphyllin meinen Dank aussprechen) wurde gewöhnlich in Mengen von 0,5 ccm, enthaltend 0,12 g, intramuskulär injiziert. Die intraperitoneale Injektion von destilliertem, auf Körpertemperatur gebrachtem Wasser geschah mit Hilfe einer *Mariotte*schen Flasche.

Die analytischen Methoden waren die gleichen wie in meiner früheren Arbeit. Vollständige Analysen konnten nur bei den Kontrollexperimenten ausgeführt werden, während nach den simultanen Injektionen die Harnabsonderung so geringfügig war, daß die Mengen

[1]) Diese Zeitschr. **184**, 31, 1927.

nicht hinreichten, um eine größere Zahl von chemischen und physikalisch-chemischen Analysen anzustellen.

Die wesentlichen Ergebnisse meiner Arbeit will ich an Hand einer Auslese aus meinen zahlreichen Versuchen darlegen, und zwar vermittelst sieben Kurven und sechs Übersichtstabellen. Einleitend sei nur bemerkt, daß die intraperitoneale Injektion von 100 ccm destillierten Wassers in keinem einzigen Falle zu irgendwie erkennbaren Störungen führte. Innerhalb 1 Stunde wird die injizierte peritoneale Flüssigkeit mit dem Blute isotonisch und enthält bis zu 0,6 % NaCl sowie andere anorganische Salze. Auch Eiweiß läßt sich in der Flüssigkeit nachweisen. Die Analyse des Blutes zeigt ein Sinken des Chloridgehalts des Blutes ganz entsprechend der raschen Ablenkung in die Bauchhöhlenflüssigkeit.

Abb. 1 stellt kurvenmäßig die Diurese an zwei Kaninchen (Nr. 1 und 2) nach bloßer Injektion von Euphyllin dar. Die Übersichtstabelle I enthält die Einzeldaten aus diesen Versuchen.

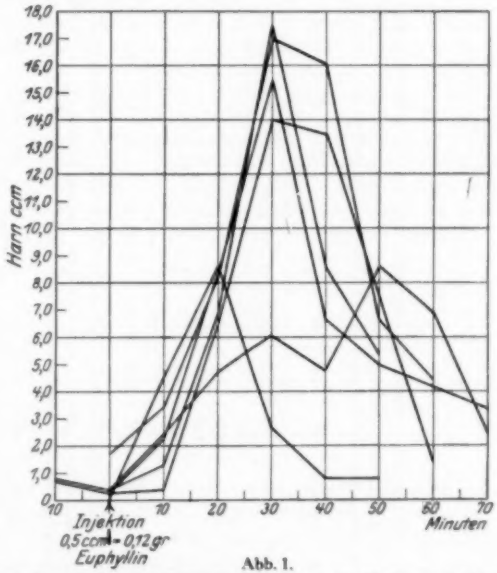


Abb. 1.

Die Abszissen sind die Zeiten in Zehnminutenperioden, die Ordinaten die Harnmengen in ccm.

Die Kurven zeigen die charakteristische sehr starke Wirkung von Euphyllin unter meinen Versuchsbedingungen am normalen Tiere. Aus der Übersichtstabelle geht hervor, daß die durchschnittliche Harnmenge in der Periode vor jeder Injektion 0,53 ccm in einer Zehnminutenperiode beträgt. Dieser Wert ist um ein Geringfügiges höher als derjenige, den ich früher beobachtete, aber nicht ganz so hoch, wie der von *Raulston* beobachtete. Die Tiere lagen während der Versuchsdauer ruhig und machten nur ganz gelegentlich minimale Bewegungen.

Tabelle I. Euphyllindiurese. Zusammenfassung der Harnausscheidung in Zehnminutenperioden.
1. Normale Euphyllindiurese nach Injektion von 0,5 ccm = 0,12 g.

Nr.	Datum	Harn in der Blase	10	Injektion ↓	10	20	30	40	50	60	70	Gesamtharnmenge	Gesamt-NaCl-Menge	Zeit	Tier
1	28. X.	32,2	0,4		2,4	4,8	6,1	4,8	**8,6**	6,9	2,5	36,1	0,2204	70	1
3	18. XI.	33,0	1,7		3,4	8,3	**17,0**	16,1	6,7	4,5		56,0	0,2894	60	1
4	2. XII.	0,8	0,4		1,3	6,8	**17,5**	8,6	5,4			39,6	0,2486	50	1
5	18. XI.	5,0	0,3		0,4	6,4	**14,0**	13,5	7,6	1,5		43,4	0,1400	60	2
6	17. XII.	52,0	0,0		4,5	**8,6**	2,7	0,8	0,8			17,4	0,1059	50	2
7	13. I.	8,0	0,4		2,4	8,4	**15,6**	6,7	5,0	4,2	3,4	45,7	0,2451	70	1
	Durchschnitt:		0,53		2,4	7,2	**12,2**	8,4	5,7	4,3	3,0	39,7	0,2082	60	

Tabelle II. Euphyllindiurese. Zusammenfassung der Harnausscheidung in Zehnminutenperioden.
2. Blockierte Euphyllindiurese nach gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von 100 ccm destillierten Wassers.

Nr.	Datum	Harn in der Blase	10	Injektion ↓	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	Gesamtharnmenge 1 Stunde	Gesamt-NaCl-Menge 1 Stunde	Tier
10	6. III.	43	0,2		0,7	0,9	0,2	0,0	0,0	0,2	0,6	**1,2**					2,0	—	2
13	19. III.	10	0,2		0,0	0,0	0,3	0,7	1,2	1,4	3,9	**9,6**					3,6	0,0251	1
15	23. III.	10	0,0		0,0	0,0	0,0	0,6	1,1	1,1	1,2	**2,2**	1,2	1,1	0,9		2,8	0,0132	1
17	13. V.	63	0,4		**1,2**	0,8	0,4	0,2	0,1	0,5							3,2	0,0116	1
18	13. V.	30	0,4		0,7	0,7	1,6	1,4	1,1	**2,4**							7,9	—	2
20	6. VII.	72	0,2		1,1	0,8	1,1	0,9	1,2	0,9	**1,6**						6,0	—	1
	Durchschnitt:		0,23		0,6	0,5	0,6	0,6	0,8	1,1	1,8	**4,3**					4,3	0,0166	

Tabelle III. Euphyllindiurese. Zusammenfassung der Harnausscheidung in Zehnminutenperioden.
3. Blockierte Euphyllindiurese nach gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von 100 ccm destillierten Wassers.

Nr.	Datum	Harn in der Blase	10	Injektion ↓	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	Gesamtharnmenge 1 Stunde	Gesamt-NaCl-Menge 1 Stunde	Tier
11	10. III.	4,0	0,2		0,2	0,5	0,3	0,4	0,3	1,1	2,0	**3,2**					2,8	0,0166	6
12	17. III.	1,5	0,2		0,0	0,4	0,0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,8	1,3	**1,5**	0,5	0,0058	4
14	19. III.	29,0	0,3		0,5	0,7	1,0	0,6	0,4	1,3†)	**15,7**	18,1	13,5	5,5	6,7	7,5	4,5	0,0229	10
16	28. IV.	14,0	0,5		1,2	0,6	0,1	0,1	0,4	0,1†)	0,4	1,2	1,8	2,2	**3,2**	3,2	2,5	—	9
19	18. V.	10,0	0,4	*)	0,0	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2†)	0,9	1,5	2,2	4,7	6,2	**6,6**	0,8	—	9
	Durchschnitt:		0,3		0,4	0,5	0,3	0,3	0,2	0,6	5,8	4,8	**6,9**	3,3	4,4	4,7	2,2	0,0151	

*) Keine Injektion von 0,12 g Euphyllin bis †). — †) Zweite Injektion von 0,12 g Euphyllin. — Die Maximalwerte sind fett gedruckt.

Nach Injektion von Euphyllin erhebt sich die durchschnittliche Harnmenge steil und erreicht während der dritten Zehnminutenperiode ihren durchschnittlichen Maximalwert von 12,2 ccm. Sie sinkt dann allmählich, so daß noch am Ende einer Stunde eine erhöhte Diurese stattfindet. Die Maximaldiurese während einer Zehnminutenperiode variiert zwischen 8,6 und 17,5 ccm, durchschnittlich 13,6 ccm. Anstatt in der dritten Zehnminutenperiode kann sie so früh wie die zweite und so spät wie die fünfte Periode eintreten. Die während der ersten Stunde ausgeschiedene durchschnittliche Harnmenge ist 39,7 ccm, wechselnd zwischen 17,4 und 56,0 ccm.

Die gesamte während eines Versuchs ausgeschiedene NaCl-Menge wechselt zwischen 106 und 289 mg. Die durchschnittliche Menge, die 60 Minuten nach einer Euphyllininjektion in sechs Versuchen ausgeschieden wurde, war 208 mg. Unter Annahme einer Blutmenge von $^1/_{13}$ des Körpergewichts besaßen die 2,2 kg schweren Kaninchen rund 170 ccm Blut. Die Kochsalzkonzentration des Gesamtblutes betrug durchschnittlich 0,47%. Demnach enthielt jedes Tier angenähert 0,8 g NaCl in seinem Gesamtblut. Die in einer Stunde ausgeschiedene NaCl-Menge beläuft sich demnach auf etwa 26% des gesamten Blutchlorids, und trotzdem bleiben die Blutchloride bis an das Ende des Versuchs beständig hoch. Daher müssen die Chloride rasch aus den Geweben in das Blut und dann in den Harn übertreten. Ein Teil dieses Übertritts tut sich in der beobachteten, wenn auch nicht sehr großen Erhöhung der Blutchloride kund.

Nachdem wir auf diese Weise ein Bild, und zwar in vollständiger Bestätigung meiner früheren Beobachtung der normalen Euphyllindiurese gewonnen haben, gehen wir zu den Erfolgen der Ablenkung durch intraperitoneale Injektion von destilliertem Wasser über, die zu einer vollständigen Blockierung, wie sie bezeichnet werden möge, führt. Die nachfolgende Abb. 2 und Übersichtstabelle II liefert an den gleichen beiden Kaninchen die Daten der blockierten Euphyllindiurese in sechs Versuchen.

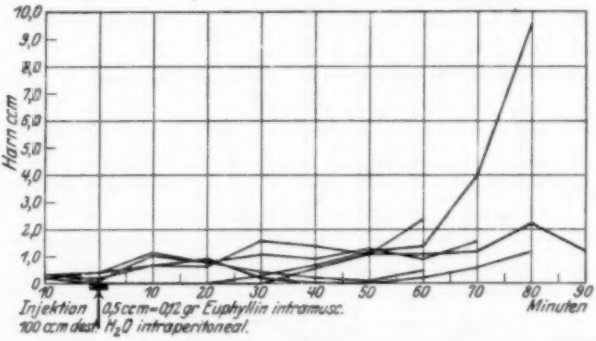


Abb. 2.

Die Kurvendarstellung offenbart in sehr eindringlicher Weise den Tatbestand: Die mächtige Euphyllindiurese der früheren Reihe ist unter sonst gleichen Bedingungen durch die gleichzeitige intraperitoneale Injektion vollständig blockiert. Die sechs Versuche sind an den gleichen Tieren angestellt wie in der früheren Reihe. Die durchschnittliche Menge abgesonderten Harns bleibt nach der Euphylininjektion in den ersten vier

Perioden auf fast dem gleichen Niveau wie vor der Injektion. Dann kommt es zu einem geringfügigen Anstieg, welcher sein durchschnittliches Maximum von 4,3 ccm in der achten Periode hat. Wenn gelegentlich in einer früheren Periode ein geringer Anstieg beobachtet wurde, rührt es daher, daß die zeitlichen Verhältnisse von Euphyllininjektion und intraperitonealer Injektion nicht genau die richtigen waren. Zur Zeit der sekundären Diurese ist die peritoneale Flüssigkeit isotonisch geworden und hat einen Kochsalzgehalt von 0,587%. Vergleicht man die Gesamtmenge von Harn, die innerhalb einer Stunde nach der Euphyllininjektion in beiden Reihen abgesondert wird, so ergibt sich, daß die intraperitoneale Injektion die Diurese bis auf 10,8% ihres normalen Wertes herabgesetzt hat.

Die Gesamtmenge Kochsalz, die während einer Stunde nach der Doppelinjektion ausgeschieden wird, beträgt im Durchschnitt 17 mg. Der Vergleich mit der durchschnittlichen Menge von 208 mg in sechs Versuchen an den gleichen beiden Kaninchen nach bloßer Euphyllininjektion zeigt deutlich die Folgen der Ablenkung des Kochsalzes in das destillierte Wasser in der Bauchhöhle. Nur 8,2% der normalen Kochsalzmenge gelangen noch zur Ausscheidung.

Zur Kontrolle der mitgeteilten Befunde wurden noch Kontrollversuche an vier anderen Kaninchen, wie in der Einleitung erwähnt, angestellt. Das Ergebnis von fünf derartigen Versuchen gebe ich in Abb. 3 und Übersichtstabelle III.

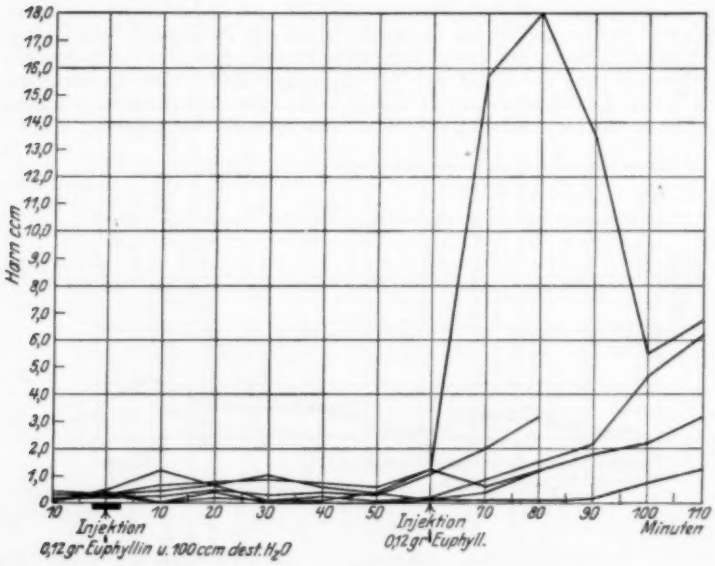


Abb 3.

Zunächst zeigt die kurvenmäßige Darstellung, daß bei diesen vier Kaninchen nach Injektion von Euphyllin und von 100 ccm destillierten Wassers intraperitoneal der Verlauf der Diurese in den ersten 60 Minuten

genau der gleiche ist wie in der früheren Reihe. Praktisch ist die Diurese vollständig blockiert. In drei von den fünf Versuchen wurde nach 60 Minuten eine zweite intramuskuläre Injektion gemacht, um die Reaktionsfähigkeit der Tiere in dieser Phase zu prüfen. Das Ende der betreffenden Kurven ist durch einen kleinen Kreis bezeichnet. In allen drei Fällen kommt es zu einer sekundären Diurese, die in einem Falle zu den maximalsten gehört, die man überhaupt beobachtet hat. Diese Kontrollen, wie übrigens auch die zahlreichen gelungenen Diureseversuche, ohne intraperitoneale Injektion, die früher *Raulston* angestellt hat, beweisen die gute Reaktionsfähigkeit dieser Versuchsindividuen. Versuch 19 war ein Kontrollversuch, in welchem nur die intraperitoneale Injektion von destilliertem Wasser anfänglich ausgeführt wurde, und erst am Ende von 60 Minuten wurde Euphyllin injiziert. Der Versuch verläuft ganz gleich, wie z. B. Versuch 16. Da die durchschnittliche Gesamtharnmenge während einer Stunde nur 2,2 ccm, die durchschnittliche Gesamtkochsalzmenge in der gleichen Zeit nur 0,0151 g beträgt, geht aus dieser Versuchsreihe die vollständige Blockierung des Einflusses von Euphyllin auf Wasser und Salzausscheidung unter dem Einfluß des destillierten Wassers in der Bauchhöhle hervor.

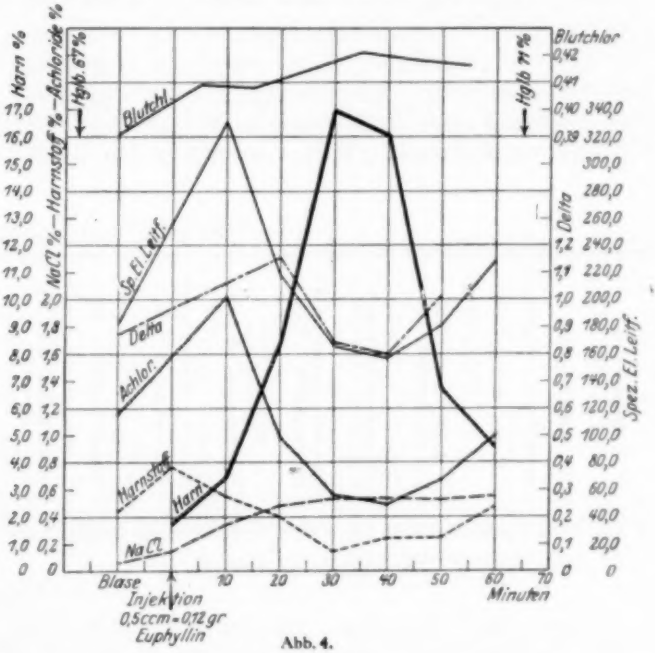


Abb. 4.

In Abb. 4 und 5 und den zugehörigen Tabellen IV und V bringe ich, vorgängig jeder weiteren Analyse, zwei durchgeführte Einzelbeispiele der normalen Euphyllindiurese an Kaninchen 1 und 2.

Der Inhalt der Abbildungen und Tabellen ist aus den beigegebenen Bezeichnungen genau ersichtlich. Es ist daher nur nötig, auf einige Haupt-

Tabelle

Versuch 3. Normaler Kontrollversuch.

Nummer der Harnprobe	Zeitintervall	Menge in ccm	% NaCl im Harn	Gramm NaCl im Harn	Molare Konzentration des Harn-NaCl $\frac{1}{1}$	α = Dissoziation des Harn-NaCl	Molekulare Konzentration der Harnchloride = C_{NaCl}	NaCl-Moleküle im Harn	% Harnstoff im Harn	Gramm Harnstoff im Harn	Molare Konzentration des Harnstoffs	Harnstoffmoleküle im Harn	Spezifisch-elektrische Leitfähigkeit 10^{-3}
1	Blase	33,0	0,058	0,0191	0,0098	0,936	0,0190	0,000 63	0,418	0,1379	0,0696	0,002 30	183,05
2	10	1,7	0,144	0,0024	0,0242	0,907	0,0461	0,000 08	0,768	0,0131	0,1280	0,000 22	—
												Injektion von 0,5 ccm	
3	10	3,4	0,342	0,0116	0,0585	0,873	0,1096	0,000 37	0,557	0,0189	0,0928	0,000 32	332,01
4	10	8,3	0,478	0,0397	0,0817	0,855	0,1516	0,001 26	0,401	0,0333	0,0669	0,000 56	216,78
5	10	17,0	0,538	0,0915	0,0920	0,849	0,1701	0,002 89	0,145	0,0247	0,0241	0,000 41	165,46
6	10	16,1	0,539	0,0868	0,0923	0,848	0,1706	0,002 75	0,254	0,0409	0,0424	0,000 68	157,05
7	10	6,7	0,526	0,0352	0,0901	0,850	0,1667	0,001 12	0,250	0,0168	0,0416	0,000 28	181,81
8	10	4,5	0,547	0,0246	0,0936	0,847	0,1725	0,000 78	0,479	0,0216	0,0798	0,000 47	229,22

Tabelle

Versuch 5. Normaler Kontrollversuch.

Nummer der Harnprobe	Zeitintervall	Menge in ccm	% NaCl im Harn	Gramm NaCl im Harn	Molare Konzentration des Harn-NaCl $\frac{1}{1}$	α = Dissoziation des Harn-NaCl	Molekulare Konzentration der Harnchloride = C_{NaCl}	NaCl-Moleküle im Harn	% Harnstoff im Harn	Gramm Harnstoff im Harn	Molare Konzentration des Harnstoffs	Harnstoffmoleküle im Harn	Spezifisch-elektrische Leitfähigkeit 10^{-3}
1	Blase	5,0	0,165	0,0083	0,0282	0,902	0,0536	0,000 27	0,468	0,0234	0,078	0,000 39	204,80
2	10	0,3	0,229	0,0007	0,0392	0,888	0,0739	0,000 02	—	—	—	—	—
												Injektion von 0,5 ccm	
3	10	0,4	0,390	0,0016	0,0667	0,865	0,1244	0,000 05	0,276	0,0011	0,046	0,000 02	—
4	10	6,4	0,349	0,0223	0,0597	0,870	0,1118	0,000 72	0,294	0,0188	0,049	0,000 31	124,55
5	10	14,0	0,317	0,0444	0,0542	0,874	0,1017	0,001 42	0,060	0,0084	0,010	0,000 14	78,78
6	10	13,5	0,285	0,0385	0,0488	0,878	0,0916	0,001 24	0,048	0,0065	0,008	0,000 11	73,78
7	10	7,6	0,346	0,0263	0,0592	0,870	0,1107	0,000 84	0,072	0,0055	0,012	0,000 09	94,93
8	10	1,5	0,457	0,0069	0,0782	0,857	0,1452	0 000 22	0,168	0,0025	0,028	0,000 04	—

IV.

18. November 1925. Kaninchen 1.

Molare Konzentration als normales NaCl g	α = Dissoziation der vorausgehenden Lösung	Molekulare Konzentration der Elektrolyte $= C_e$	Molare Konzentration der Achloride $= g - 1$	Molekulare Konzentration der Achloride $= C_e - C_{NaCl} = C_a$	% Achloride als NaCl berechnet	Delta $= \Delta$	Molekulare Konzentration $= \Delta \div 1{,}83 = C_o$	$C_e \div C_o =$ % Elektrolyte	$C_a \div C_e =$ % Achloride	Gesamtmoleküle im Harn $= T_o$	Anorganische Moleküle im Harn $= T_a$	Organische Moleküle im Harn $= T_o - T_a = T_{org.}$	Konzentration der organischen Moleküle
0,2084	0,804	0,3759	0,1986	0,3569	1,161	0,869	0,4697	79,9	94,9	0,01550	0,01240	0,00310	0,0938
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
= 0,12 g Euphyllin.													
0,4030	0,755	0,7073	0,3445	0,5977	2,015	—	—	—	84,5	—	0,00241	—	—
0,2516	0,782	0,4484	0,1699	0,2968	0,994	1,152	0,6227	71,9	66,3	0,00517	0,00373	0,00144	0,1743
0,1870	0,808	0,3381	0,0950	0,1680	0,555	0,838	0,4530	74,7	49,6	0,00770	0,00575	0,00195	0,1149
0,1769	0,812	0,3205	0,0846	0,1499	0,494	0,795	0,4297	74,5	46,8	0,00692	0,00516	0,00176	0,1092
0,2068	0,803	0,3729	0,1167	0,2062	0,681	1,018	0,5503	67,7	55,3	0,00369	0,00250	0,00119	0,1774
0,2667	0,780	0,4747	0,1731	0,3022	1,012	—	—	—	63,3	—	0,00214	—	—

V.

10. Dezember 1925. Kaninchen 2.

Molare Konzentration als normales NaCl g	α = Dissoziation der vorausgehenden Lösung	Molekulare Konzentration der Elektrolyte $= C_e$	Molare Konzentration der Achloride $= g - 1$	Molare Konzentration der Achloride $= C_e - C_{NaCl} = C_a$	% Achloride als NaCl berechnet	Delta $= \Delta$	Molekulare Konzentration $= \Delta \div 1{,}85 = C_o$	$C_e \div C_o =$ % Elektrolyte	$C_a \div C_e =$ % Achloride	Gesamtmoleküle im Harn $= T_o$	Anorganische Moleküle im Harn $= T_a$	Organische Moleküle im Harn $= T_o - T_a = T_{org.}$	Konzentration der organischen Moleküle
0,2362	0,790	0,4235	0,2080	0,3699	1,215	—	—	—	—	—	0,00212	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
= 0,12 g Euphyllin.													
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,1390	0,826	0,2539	0,0793	0,1421	0,463	0,550	0,2973	85,3	56,1	0,00190	0,00162	0,00028	0,0434
0,0880	0,851	0,1628	0,0338	0,0611	0,198	0,299	0,1616	100,0	37,3	0,00226	0,00228	—	0,0012
0,0794	0,856	0,1464	0,0306	0,0548	0,179	0,288	0,1557	94,0	37,4	0,00210	0,00198	0,00012	0,0083
0,1041	0,842	0,1919	0,0449	0,0812	0,262	0,364	0,1968	97,5	42,4	0,00150	0,00146	0,00004	0,0049
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

punkte aufmerksam zu machen. In beiden Versuchen sieht man den früher von mir beschriebenen Chloridanstieg des Blutes, auf dessen ursächliche Bedeutung für die Diurese gleichfalls früher hingewiesen wurde, so daß die beiden Versuche zur Bestätigung der früheren dienen. Die osmotischen und molaren Verhältnisse des Harns während der Euphyllindiurese sind

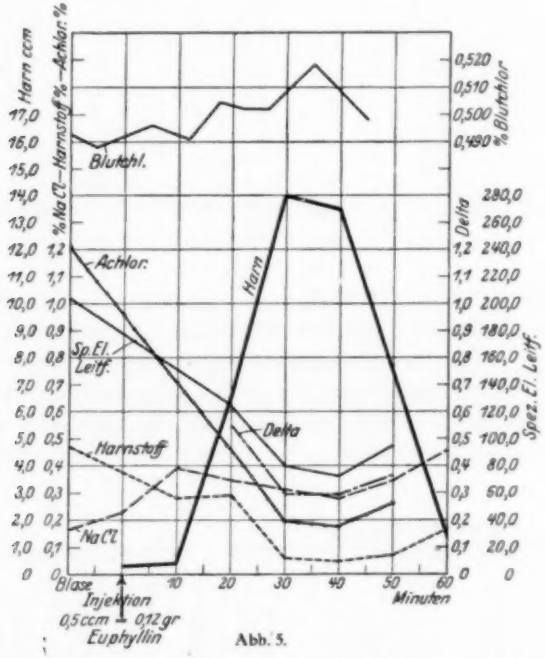


Abb. 5.

ebenfalls wie ich sie früher beschrieben habe. Vielleicht noch deutlicher als früher jedoch kommt zum Vorschein, daß die Achloridausscheidung relativ gesteigert sei. Insgesamt lehren wieder die beiden Versuche, daß der Elektrolyteinstrom aus den Geweben in das Blut und die Elektrolytausscheidung durch die Niere unter dem Einfluß des Euphyllins, begleitet von einer Wasserausscheidung, Hand in Hand gehen.

Den tiefen Unterschied zu diesen beiden Versuchen zeigt ein Blockierungsversuch an Kaninchen 1, dargestellt durch Abb. 6 und Tabelle VI.

Vor jeder Injektion wurden fünf Zehnminutenperioden normaler Harnabsonderung beobachtet, in welcher Zeit insgesamt 3,5 ccm ausgeschieden wurden mit einem Mittelwert von 0,7 ccm Harn in der Zehnminutenperiode. In dieser selben Zeit wurden insgesamt 0,0075 g Kochsalz ausgeschieden.

Als dann kombinierte intramuskuläre Injektion von Euphyllin und die intraperitoneale von 100 ccm destillierten Wassers gemacht wurde, gab es, nach einer anfänglichen geringfügigen Vermehrung der Harnausscheidung, vermutlich von den Zeitverhältnissen der beiden Injektionen

Tabelle VI.

Euphyllindiurese. Zusammenfassung der Harnausscheidung in Zehnminutenperioden.

4. Durchschnitte, Kaninchen 1.

1. Normale Euphyllindiurese nach Injektion von 0,5 ccm = 0,12 g.
2. Blockierte Euphyllindiurese nach gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von 100 ccm destillierten Wassers.

	10	Injektion ↓	10	20	30	40	50	60	70	80	Zahl der Versuche	Gesamtharnmenge 1 Stunde	Gesamt-NaCl-Menge 1 Stunde	Zeit
1	0,7		2,4	7,1	**14.1**	9,1	6,4	5,2	3,0		4	43,30	0,2408	60,0
2	0,2		0,6	0,4	0,5	0,6	0,9	1,0	2,2	**5.9**	4	4,00	0,0166	60,0

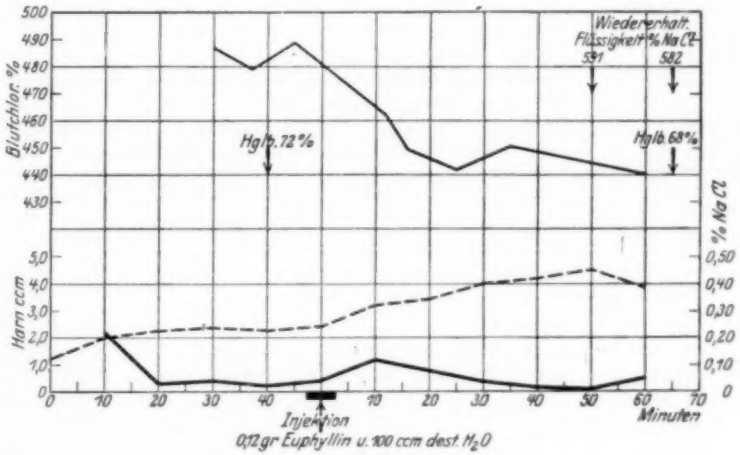


Abb. 6.

herrührend, eine vollständige Blockierung der Wirkung des Diureticums. In den folgenden 60 Minuten wurden 3,2 ccm Harn, 0,5 ccm durchschnittlich pro Zehnminutenperiode abgesondert. 0,0116 g Kochsalz wurden insgesamt ausgeschieden.

Die Blutchloride fielen durchschnittlich von 0,485 % vor der Injektion auf durchschnittlich 0,443 % am Ende des Versuchs, als deutliches Zeichen der Ablenkung der Chloride in die Bauchhöhlenflüssigkeit. Diese letztere hatte am Ende eine durchschnittliche Konzentration von 0,596 % NaCl und eine Gefrierpunktserniedrigung gleicher Größenordnung wie diejenige des Blutes erreicht. Das Hämoglobin war von 87 auf 68 % gefallen infolge der Absorption von Flüssigkeit aus der Bauchhöhle. Man erkennt, daß die Verdünnung des Blutes auch nicht im geringsten die Ablenkung der Elektrolyte zu kompensieren vermag.

Was speziell die Übersichtstabelle anbetrifft, so zeigt sie in den Reihen 1 und 2 nicht wie die Abb. 6 je einen Spezialfall, sondern den Vergleich der durchschnittlichen Werte von vier normalen Euphyllindiureseversuchen und vier blockierten Euphyllindiuresen an Kaninchen 1. Die Unterschiede sind so außerordentlich deutlich, daß es keiner weiteren Worte zur Erläuterung bedarf. Es sei nur noch auf die sehr spät einsetzende sekundäre Diurese nach Abklingen des Blocks aufmerksam gemacht.

Die nachfolgende Tabelle VII bringt die Einzeltatsachen eines Blockierungsversuchs Nr. 2 an einem Kontrolltier, Kaninchen 6, nebst einer Analyse der am Ende des Versuchs wieder erhaltenen Bauchhöhlenflüssigkeit. Die Blockierung der Diurese ist sehr deutlich ausgesprochen, ebenso die außerordentlich geringfügige Kochsalzausscheidung. Mit Hilfe der chemischen und physikalisch-chemischen Daten wurde unter Berücksichtigung des

Tabelle VII.

Euphyllindiurese.

Versuch XI. 10. März 1926. Kaninchen 6, 2,9 kg.

2 Uhr 40 Minuten: Auf dem Tisch,
2 „ 50 „ Katheterisierung,
3 „ 00 „ Blase entleert, 4,0 ccm trüber Harn,
3 „ 20 „ bis 3 Uhr 25 Minuten Injektion 100 ccm destillierten Wassers, intraperitoneal, 38° C,
3 „ 23 „ Injektion 0,5 ccm = 0,12 g Euphyllin, intramuskulär.
4 „ 50 „ Flüssigkeit wiedererhalten aus der Bauchhöhle.

Harn Nr.	Zeit	Menge	% NaCl	g NaCl
1	3h00′	4,0	0,414	0,0165
2	3 10	0,2	—	—
3	3 20	0,2	—	—
	Injektionen.			
4	3h30′	0,2	0,552	0,0011
5	3 40	0,5	0,551	0,0028
6	3 50	0,3	0,527	0,0016
7	4 00	0,4	0,666	0,0027
8	4 10	0,3	0,676	0,0020
9	4 20	1,1	0,578	0,0064
	→ 2,8 ccm mit 0,0166 g NaCl 1 Stunde.			
10	4h30′	2,0	0,355	0,0071
11	4 40	3,2	0,254	0,0081
	→ 8,0 ccm mit 0,0318 g NaCl 80 Minuten.			

Wiedererhaltene Flüssigkeit.

Delta	Gesamte molekulare Konzentration	Spez.-elektr. Leitfähigkeit	Molare Lösung als norm. NaCl	α	Elektrische molekulare Konzentration	% NaCl	Molares NaCl	α	Molekulare Konzentration NaCl	Molekulare Konzentration Achloride	Molekulare Konzentration Nichtelektrol.	% Achloride	% Elektrolyte	% Nicht.
0,543	0,2936	117,57	0,1304	0,829	0,2384	0,621	0,1062	0,841	0,1933	0,0451	0,0552	18,9	81.4	18
					Harnprobe Nr. 11, 3,2 ccm.									
		82,06	0,0888			0,254	0,0434					51,1		

Vorhandenseins von Eiweiß in der Peritonealflüssigkeit berechnet, daß 81,4% der in ihr enthaltenen gelösten Stoffe Elektrolyte und 18,9% Achloride sind. Neben Eiweiß sind wohl auch noch andere organische Stoffe übergetreten. Aber das Hauptinteresse liegt in dem hohen Prozentgehalt an Kochsalz. Die Ablenkung von diesem in die Bauchhöhle, zum Teil wohl auch die Ablenkung der Achloride, sind für die Blockierung der Diurese verantwortlich zu machen.

Die nachfolgende Abb. 7 und Tabelle VIII dienen als Beispiel für die genauere Untersuchung der sekundären Diurese, welche nach einer blockierten Diurese stattfindet, wenn nach Ablauf einer Stunde ein zweites Mal Euphyllin injiziert wird.

Die Abbildung zeigt deutlich die außerordentlich große und prompte Diurese, welche nach der zweiten Euphyllininjektion einsetzt. Während in der 60 Minuten andauernden Blockperiode nur 4,5 ccm Harn mit 0,0292 Kochsalz ausgeschieden wurden, lieferte die Niere nach der zweiten Euphyllininjektion 67 ccm Harn mit einem Gehalt von 0,426 g Kochsalz. Während dieser sekundären Diurese nimmt der Prozentgehalt an Elektrolyten ab,

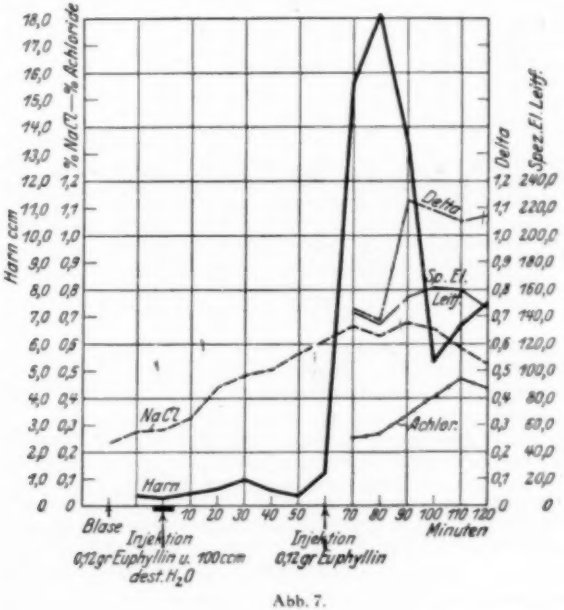


Abb. 7.

jedoch derjenige an organischer Substanz zu. Der Prozentgehalt der Achloride ist auch gesteigert, nichtsdestoweniger werden mehr Chloride als Achloride ausgeschieden. Der Versuch dient vor allem zu einem abermaligen Beweis der Tatsache, daß die Anfüllung der Bauchhöhle mit einer Flüssigkeit und die sonstigen Versuchsbedingungen keinen Hinderungsgrund für eine Diurese bilden, das Ausbleiben demnach nur auf der Ablenkung der Elektrolyte beruhen kann.

Tabelle

Versuch 14. 19. März

Nummer der Harnprobe	Zeitintervall	Menge in ccm	% NaCl im Harn	Gramm NaCl im Harn	Molare Konzentration des Harn-NaCl 1	α = Dissoziation des Harn-NaCl	Molekulare Konzentration der Harnchloride = C_{NaCl}	NaCl-Molekule im Harn	% Harnstoff im Harn	Gramm Harnstoff im Harn	Molare Konzentration des Harnstoffs	Harnstoffmolekule im Harn	Spezifischelektrische Leitfähigkeit 10^{-3}
1	Blase	29,0	0,232	0,0652	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	10	0,4	0,276	0,0011	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	10	0,3	0,283	0,0008	—	—	—	—	—	—	—	—	—
						Injektion von 100 ccm destillierten H_2O intraperitoneal.							
4	10	0,5	0,327	0,0016	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	10	0,7	0,444	0,0031	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	10	1,0	0,488	0,0049	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	10	0,6	0,507	0,0030	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	10	0,4	0,568	0,0023	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	10	1,3	0,619	0,0080	—	—	—	—	—	—	—	—	—
													Injektion von 0,12 g =
10	10	15,7	0,668	0,1049	0,1181	0,835	0,2167	0,003 40	—	—	—	—	144,00
11	10	18,1	0,630	0,1141	0,1076	0,840	0,1979	0,003 58	—	—	—	—	135,22
12	10	13,5	0,681	0,0919	0,1163	0,836	0,2136	0,002 88	—	—	—	—	154,78
13	10	5,5	0,660	0,0363	0,1129	0,838	0,2074	0,001 14	—	—	—	—	161,50
14	10	6,7	0,583	0,0391	0,0997	0,844	0,1842	0,001 23	—	—	—	—	160,20
15	10	7,5	0,529	0,0397	0,0904	0,850	0,1673	0,001 26	—	—	—	—	148,13

Wiedererhaltene Flüssigkeit: Nach 55 Minuten 0,561 % NaCl

Schließlich bringe ich in Tabelle IX eine Übersicht des Chloridgehalts der wiedererhaltenen Peritonealflüssigkeit auf Grund von Analysen von acht Versuchen.

In sechs von diesen acht Versuchen wurde zweimal Flüssigkeit entleert. In allen Fällen wurde schließlich eine recht erhebliche Kochsalzkonzentration erreicht. Dieselben sind höher als in meinen früheren Versuchen, in denen ich statt destillierten Wassers Zuckerlösungen in die Bauchhöhle brachte.

Mit Hilfe der Mikro-Kjeldahlbestimmung wurde ermittelt, daß der Eiweißgehalt der wiedergewonnenen Peritonealflüssigkeit so hoch wie 1,5 % sein kann. Mit Hilfe dieser Zahl wurde nach *Bugarszky* und *Tangl*[1]) der Wert der elektrischen Leitfähigkeit korrigiert.

Insgesamt wurden in elf Versuchen an sechs verschiedenen Kaninchen die normalen diuretischen Wirkungen des spezifischen Diureticums Euphyllin durch die gleichzeitige intraperitoneale Injektion von körperwarmem, destilliertem Wasser vollständig blockiert. Denn während der Stunde nach der kombinierten Injektion ist praktisch die Harnabsonderung kaum gegenüber der normalen Absonderung verändert.

[1]) *Bugarszky* und *Tangl*, Pflügers Arch. **72**, 531, 1898.

VIII.
1926. Kaninchen Nr. 10.

Molare Konzentration als normales NaCl g	α = Dissoziation der vorausgehenden Lösung	Molekulare Konzentration der Elektrolyte $= C_e$	Molare Konzentration der Achloride $= g - l$	Molekulare Konzentration der Achloride $= C_e - C_{NaCl} = C_a$	% Achloride als NaCl berechnet	Delta $= \Delta$	Molekulare Konzentration $= \Delta \div 1{,}85 = C_o$	$C_e \div C_o =$ % Elektrolyte	$C_a \div C_e =$ % Achloride	Gesamtmoleküle im Harn $= T_o$	Anorganische Moleküle im Harn $= T_a$	Organische Moleküle im Harn $= T_o - T_a = T_{org.}$	Konzentration der organischen Moleküle
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

auch 0,12 g = 0,5 ccm Euphyllin intramuskulär.

—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

0,5 ccm Euphyllin intramuskulär.

0,1616	0,818	0,2936	0,0435	0,0769	0,254	0,722	0,3903	74,6	26,2	0,00613	0,00461	0,00512	0,0967
0,1537	0,820	0,2797	0,0461	0,0818	0,270	0,688	0,3719	75,1	29,3	0,00673	0,00506	0,00617	0,0922
0,1742	0,813	0,3160	0,0579	0,1024	0,339	1,130	0,6108	51,7	32,4	0,00824	0,00426	0,00398	0,2948
0,1821	0,810	0,3298	0,0692	0,1228	0,405	—	—	—	37,3	—	0,00182	—	—
0,1804	0,811	0,3267	0,0807	0,1425	0,473	1,052	0,5681	57,4	43,6	0,00381	0,00219	0,00162	0,2420
0,1663	0,816	0,3020	0,0759	0,1347	0,444	1,074	0,5805	51,9	44,8	0,00435	0,00227	0,00208	0,2785

im Harn, nach 115 Minuten 0,602% NaCl im Harn.

Während dieser Periode wird die intraperitoneale Flüssigkeit mit dem Blute isotonisch und Kochsalz wird rasch aus dem Blute in das künstliche Transsudat abgelenkt. Der Chloridgehalt des Blutes sinkt. Die physikalisch-chemische Analyse ergibt, daß auch Achloride in einer gewissen Menge in die Peritonealflüssigkeit abgelenkt werden. Infolge des Wassereinstromes in das Blut sinkt der Hämoglobingehalt. Die Ausscheidung von Chloriden durch die Niere ist ganz erheblich vermindert.

Nach 50 bis 60 Minuten beginnt gewöhnlich eine geringfügige sekundäre Diurese. Injiziert man zu dieser Zeit nochmals Euphyllin, so wird die sekundäre Diurese erheblich gesteigert.

Die mitgeteilten Untersuchungen beweisen erneut die Richtigkeit der in der ersten Arbeit auf Grund zahlreicher Versuche gemachten Annahme, daß die Ablenkung von Elektrolyten aus dem Blute in die Bauchhöhle die Wirkung der sogenannten spezifischen Diuretica aufhebt. Auch in dieser Arbeit wurde durch Kontrollversuche gezeigt, daß nicht etwa andere Momente an der Unterdrückung der Diurese schuld seien. Es bliebe freilich noch die Möglichkeit, daß, weil in dieser Arbeit de-

Tabelle IX.

Euphyllindiurese.

NaCl-Gehalt der intraperitoneal injizierten Flüssigkeit.

Versuch Nr.	Datum	Proz. NaCl	Zeitintervall Minuten	Tier
10	6. III.	0,505	40	2
11	10. IV.	0,621	90	6
12	17. IV.	0,531	45	4
12	17. IV.	0,596	115	4
13	19. IV.	0,582	60	1
13	19. IV.	0,586	90	1
14	19. IV.	0,561	60	10
14	19. IV.	0,602	120	10
15	23. IV.	0,600	60	1
15	23. IV.	0,628	120	1
17	13. V.	0,591	45	1
17	13. V.	0,582	60	1
18	13. V.	0,608	60	2
18	13. V.	0,581	100	2

stilliertes Wasser angewandt wurde, der Reiz dieses Eingriffes reflektorisch eine Gefäßverengerung in der Niere hervorgerufen habe. Obwohl die Gleichheit der Erscheinungen bei der Zuckerinjektion diesen kritischen Einwand unwahrscheinlich erscheinen läßt, wurde er durch eine eigens darauf gerichtete Untersuchung experimentell ausgeschlossen, worüber die nachfolgende Arbeit berichten wird. Angesichts des neuen Beweises gewinnt die Lehre, daß die primäre Wirkung — was nicht besagen soll die einzige — der spezifischen Diuretica in einem gesteigerten Austritt von Elektrolyten aus den Geweben in das Blut besteht und daß infolge hiervon bei Vorhandensein von mobilisierbarem Wasser und keiner Behinderung dieser Mobilisierung die Diurese einsetzt, an Sicherheit. Angesichts dieser Tatsache treten natürlich die Faktoren, welche die moderne mechanische Theorie und die ältere sekretorische Theorie betonen, in den Hintergrund. Der ganz anders geartete wesentliche Faktor tritt hier unter physiologischen Bedingungen klar zutage.

Zusammengefaßt ist der wesentliche Inhalt dieser Arbeit wie folgt:

1. Durch intraperitoneale Injektion von 100 ccm körperwarmen, destillierten Wassers konnte die spezifische Euphyllindiurese praktisch vollständig blockiert werden.

2. Sämtliche Versuchstiere reagierten normal sehr stark auf Euphyllin.

3. Zu einer Zeit, wo das intraperitoneale Exsudat isotonisch mit dem Blute und an Chloriden wie auch Achloriden angereichert war, löste eine Euphyllininjektion eine starke Steigerung der an und für sich eintretenden geringfügigen sekundären Diurese aus.

4. Alle Tatsachen erklären sich unter der Annahme, daß durch die Ablenkung der Elektrolyte in die Bauchhöhle die sogenannte spezifische Wirkung der Diuretica aufgehoben wurde. Die in der früheren Arbeit gegebene Erklärung der Wirkungsweise eines spezifischen Diureticums und die Schlußfolgerungen für den Mechanismus der physiologischen Harnabsonderung erfahren eine erneute Bestätigung.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

Nr. 108.

Fortgesetzte Untersuchungen über die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica. Die Blockierung der normalen Reaktion bei Kaninchen mit entnervten Nieren.

Von

George M. Curtis,

Department[1]) of Surgery, University of Chicago,

und

Noel F. Shambaugh,

Medical Fellow, National Research Council, Ann Arbor, Michigan.

[Aus dem physiologischen Institut (Hallerianum) der Universität Bern.]

(Eingegangen am 28. März 1927.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Der eine von uns beiden (*Curtis*) hat in zwei voraufgehenden Untersuchungen über die Wirkungsweise des spezifischen Diureticums Euphyllin (Theophyllin-Äthylendiamin) die starke Diurese beschrieben, welche bei Kaninchen nach einer intramuskulären Injektion von 0,12 g erfolgt. In den meisten Fällen tritt bald nach dieser Injektion eine oft allerdings nur geringe, aber eine konstante Erhöhung der Blutchloride ein, welche für gewöhnlich der maximalen Diurese voraufgeht. Die Konzentration der Harnchloride steigt selbst während der Perioden maximaler Diurese, und eine viel größere Menge von Chloriden wird rascher ausgeschieden als vom Blut allein herrühren könnte, da die Blutchloride hoch bleiben.

Auf diese primäre Steigerung der Blutchloride wie auf den raschen Übertritt von Chloriden aus den Geweben in den Blutstrom wurde Gewicht gelegt und dieselbe in ursächlichen Zusammenhang mit der nachfolgenden Diurese gebracht. Die Bedeutung dieses Zusammen-

[1]) Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Douglas Smith Foundation for Medical Research der Universität Chicago ausgeführt.

hanges wurde zuerst durch Versuche geprüft, in denen vermittelst einer gleichzeitig mit der intramuskulären Injektion von Euphyllin ausgeführten intraperitonealen Injektion von Zuckerlösungen das Kochsalz wie andere Elektrolyte rasch in die Bauchhöhle abgelenkt wurden. Infolge dieser Ablenkung durch die leicht hypotonische Rohrzuckerlösung (die geringfügige Hypotonie geschah, um die Mobilisierbarkeit des Wassers nicht zu stören) kam es zu einer ausgesprochenen Verminderung der gewohnten Diurese. Die intraperitoneale Flüssigkeit wurde rasch blutisotonisch und erreichte eine Kochsalzkonzentration von 0,4%. Wurde die intraperitoneale Zuckerkonzentration höher gewählt, so war die Diureseverminderung geringer, wegen des Einstromes von Zucker in das Blut. Die intraperitoneale Injektion der gleichen Menge isotonischer Kochsalzlösung übte keinen hemmenden Einfluß aus, wodurch eine etwaige mechanische Behinderung der Harnabsonderung durch das Bauchhöhlenexsudat ausgeschlossen wurde. Daß die bei Zuckerlösung eintretende „Restdiurese" vom Zucker herrührte, folgte aus der Feststellung, daß der Harn eine ansteigende Ausscheidung von Zucker zeigte.

Um die Annahme, daß die Ablenkung der Elektrolyte aus dem Blute der wesentlich bestimmende Faktor für die Unterdrückung der diuretischen Wirkung des Euphyllins sei mit einer neuen Methode unter Ausschluß einer Zuckereinwanderung ins Blut zu prüfen, wurden in der voraufgehenden Arbeit 100 ccm destillierten Wassers in die Peritonealhöhle injiziert, um die Wirkung dieses Eingriffes auf die Folgen der gleichzeitigen intramuskulären Euphyllininjektion zu prüfen. In der voraufgehenden Arbeit wurde beschrieben, in wie hohem Maße dieser neue Eingriff praktisch vollständig die diuretische Wirkung des Euphyllins auf Wasser und Salzausscheidung blockierte. Erst sehr spät trat infolge der Verdünnung des Blutes eine sekundäre Diurese geringen Grades ein.

So schlagend der Erfolg dieses Eingriffes das frühere Resultat und die zur Erklärung gemachten Annahmen bestätigte, so führte er andererseits die Möglichkeit einer nicht unbedenklichen Fehlerquelle ein. Destilliertes Wasser ist ein Reizmittel, und der Reiz tat sich in unseren Versuchen darin kund, daß die intraperitoneale Flüssigkeit schließlich einen Gehalt von 1,5% Eiweiß aufwies. Es konnte aber daran gedacht werden, daß durch gleichzeitige heftige Reizung zentripetaler Nerven reflektorisch eine so starke Gefäßverengerung in der Niere eintrat, daß infolge hiervon die Diurese gehemmt wurde. Um diesem Einwand zu begegnen, war es erforderlich, jede Möglichkeit der reflektorischen Gefäßverengerung in der Niere auszuschließen.

Um dies Vorhaben auszuführen, wurden an den zu diesen Versuchen dienenden Kaninchen vorher die Nieren sorgfältig total entnervt.

Hierdurch war jede reflektorische Gefäßverengerung ausgeschlossen. 21 Versuche wurden an diesen total entnervten Tieren ausgeführt.

Die Versuche gaben auch Gelegenheit, die Reaktion auf Euphyllin bei total entnervten Nieren genauer zu untersuchen. Nachdem wir hinreichende Erfahrungen hierüber gewonnen hatten, wurde gleichzeitig mit der Euphyllininjektion wie in der voraufgehenden Arbeit destilliertes Wasser intraperitoneal injiziert. Über die gelungene vollständige Blockierung der Diurese berichtet die nachfolgende Arbeit.

Methoden.

Im wesentlichen wurden die in den früheren Arbeiten angewandten Methoden benutzt, weshalb an dieser Stelle nur über die Abänderungen und die neuen Methoden berichtet wird.

Der Gesamtstickstoff wurde nach dem von *Pincussen*[1]) beschriebenen Verfahren bestimmt. Der auf Eiweiß umgerechnete Wert diente nach *Bugarsky* und *Tangl*[2]) zur Korrektur der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit.

Der Phosphatgehalt des Harns wie auch derjenige in der wiedergewonnenen Peritonealflüssigkeit wurde nach dem Verfahren von *Kleinmann*[3]) als P_2O_5 nephelometrisch bestimmt. Die Veraschung der Harnproben, 0,5 bis 1 ccm, geschah nach *Elner*[4]) mit 1 ccm H_2SO_4 und 2 ccm Perhydrol. Die Veraschung wurde vermittelst einer kleinen Flamme, bis die Mischung farblos geworden war, ausgeführt. Der mit Wasser aufgenommene Rückstand wurde auf 100 ccm verdünnt. Von dieser Lösung wurde eine geeignete Menge in ein 25-ccm-Maßkölbchen gebracht und mit Wasser auf ein Volumen von 15 bis 20 ccm gebracht. Von hier an wurde die Bestimmung nach *Pincussen*[5]) weitergeführt, d. h. die Probe wurde mit 2,5 ccm einer 1% HNO_3 angesäuert und Trübung durch Zusatz von 2 ccm Strychninmolybdänsäurereagens entwickelt. Nach 20 Minuten wurde die Probe nephelometrisch mit der gleichzeitig hergestellten und ähnlich behandelten Standardlösung von Na_2HPO_4 mit einem Gehalt von 0,03 mg P_2O_5 verglichen. Als Nephelometer stand uns ein neues Modell von *Schmidt* und *Hänsch* zur Verfügung.

Im Gegensatz zu den früheren Arbeiten wurde zum Katheterisieren der männlichen Kaninchen ein weicher Gummikatheter anstatt eines halbsteifen als mehr passend befunden; auch ließ sich dieser leichter sterilisieren. Um die Einlaufsflüssigkeit dauernd auf Körpertemperatur zu halten, wurde dieselbe aus der vorgewärmten *Mariotte*schen Flasche durch einen in einem Warmwassertopf liegenden Schlauch geleitet.

Die Operation der Entnervung der Nieren wurde zweizeitig ausgeführt mit einem Intervall von 7 bis 11 Tagen zwischen den beiden Operationen. Die gleichzeitige Entnervung beider Nieren wurde von den Tieren nicht gut ertragen.

Zur Operation wurde das Tier in Bauchlage aufgebunden und der obere Teil des Abdomens durch eine untergeschobene Tuchrolle erhöht.

---

[1]) *L. Pincussen*, Mikromethodik, S. 44. Leipzig 1925.
[2]) *Bugarsky* und *Tangl*, Pflügers Arch. 1898, S. 531.
[3]) *H. Kleinmann*, diese Zeitschr. **99**, 45, 1919.
[4]) *Elner*, Arch. f. Bienenkunde **1**, Nr. 2/4, 118, 1926.
[5]) l. c., S. 71.

Ein 5 cm langer longitudinaler Einschnitt wurde gemacht, beginnend vom costovertebralen Winkel, längs des lateralen Randes des M. sacrospinalis. Die Lumbo sacrale Fascie wird dann gleichfalls am lateralen Rande des sacrospinalen Muskels eingeschnitten. Der Muskel wird medialwärts zur Seite geschoben, und eine gewöhnlich sichtbare große querverlaufende Vene wird doppelt unterbunden und durchschnitten. Hierdurch wird das perirenale Fett und Fascie freigelegt. Durch stumpfes Öffnen derselben mit Hilfe einer *Kocher*schen Sonde wird die Niere freigelegt und dann luxiert.

Zuerst wird der Ureter präpariert und auf eine Strecke von 5 mm vom Nierenbecken gereinigt. Dann werden die Nierenvenen freigelegt und sorgfältig von allem Anhängsel frei präpariert. In diesem Moment besteht wegen der großen Dünne der Venenwände die größte Gefahr. Vene und Ureter werden mit Hilfe von etwas Gaze oder Watte isoliert und die Arterie freigelegt. Die sichtbaren Nierennerven werden präpariert und durchrissen. Sodann wird die Nierenarterie sorgfältig soviel wie möglich auf eine Strecke von 5 mm vom umgebenden Bindegewebe frei gemacht. Mit Hilfe der *Kocher*schen Kropfsonde wird die Nierenarterie emporgehoben und ringsum mit Watte, getränkt in 95% Carbol, berührt. Rasch wird dann die Arterie mit alkoholhaltiger Watte abgewaschen, die Kochersonde entfernt und die Niere reponiert. Die Fascien und Muskeln werden mit Catgut verschlossen, die Haut mit Seide und die Wunde wird mit Jodlösung und Kollodium bepinselt.

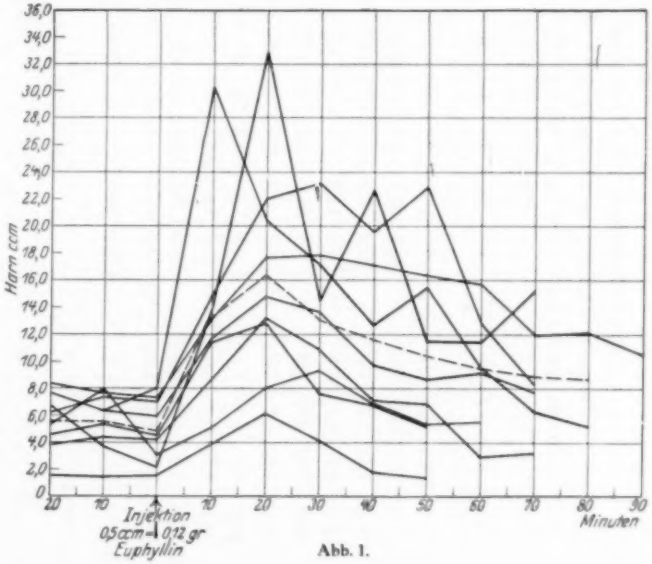


Abb. 1.

Wir haben zunächst die beiden Tiere mit vollständig entnervten Nieren genau auf ihr Verhalten gegenüber Euphyllin untersucht. Die Ergebnisse von neun derartigen Versuchen an den Kaninchen A und B legen wir in Abb. 1 und Übersichtstabelle I vor.

Übersichtstabelle 1.

Euphyllindiurese. Kaninchen mit entnervten Nieren.

Zusammenfassung der Harnausscheidung in 10-Minuten-Perioden.

1. Normale Euphyllindiurese, nach Injektion von 0,5 ccm = 0,12 g, intramuskulär.

Nr	Datum	Harn in der Blase	10	10	10	Injekt. ↓	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Gesamtharnmenge	Harnmenge pro 10-Min.-Periode	Tage nach der Operation	Tier
1	14. XII.	100,0	—	6,3	8,0		**30,2**	20,4	16,6	12,8	15,5	9,6	6,4	5,3		116,8	14,6	11	A
2	17. XII.	115,0	8,4	7,7	7,4		13,2	17,6	**17,8**	17,1	16,3	15,7	12,0	12,1	10,6	132,4	14,7	14	A
3	17. XII.	20,0	4,6	5,4	4,5		11,4	**12,9**	7,7	6,8	5,2					44,0	8,8	14	B
4	21. XII.	85,0	6,8	3,8	2,2		13,7	**33,0**	14,6	22,7	11,6	11,5	15,4			122,5	17,5	18	A
5	21. XII.	45,0	5,4	7,9	3,0		5,1	8,1	**9,4**	7,0	5,4	5,6				40,6	6,8	18	B
6	24. XII.	70,0	7,7	7,4	7,1		14,9	22,0	**23,2**	19,6	23,0	12,8	8,3			123,8	17,7	21	A
7	24. XII.	35,0	6,7	6,4	6,0		11,7	**14,8**	13,7	9,9	8,8	9,2	7,9			76,0	10,9	21	B
15	2. II.	91,5	3,9	4,4	4,4		8,5	**13,1**	11,0	7,1	6,9	3,0	3,3			52,9	7,6	61	A
17	10. II.	22,5	1,6	1,5	1,6		3,9	**6,1**	4,2	1,9	1,5					17,6	3,5	69	B
	Durchschnitt:		5,6	5,6	4,9		12,9	**16,4**	13,1	11,7	10,5	9,6	8,9	8,7		80,7	11,3		

Die Maximalwerte sind durch fetten Druck hervorgehoben.

Übersichtstabelle II.

Euphyllindiurese. Kaninchen mit entnervten Nieren.

Zusammenfassung der Harnausscheidung in 10-Minuten-Perioden.

2. Blockierte Euphyllindiurese nach gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von 100 ccm destilliertem Wasser.

Nr.	Datum	Harn in der Blase	10	10	10	Injekt. ↓	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Gesamtharnmenge	Harnmenge pro 10-Min.-Periode	Tage nach der Operation	Tier
8	4. I.	93,0	13,6	11,3	6,8		**5,2**	1,0	1,2	1,2	3,0	4,0	3,0			18,7	2,7	32	A
9	4. I.	86,0	3,3	3,9	2,1		0,7	0,1	0,2	0,6	0,6	0,9	**1,5**			4,6	0,7	32	B
10	7. I.	82,0	7,9	9,9	6,1		0,3	2,9	3,3	4,6	6,8	**15,6**	8,7			42,2	6,0	35	A
11	7. I.	41,0	3,1	2,5	4,5		**3,9**	1,7	0,4	0,9	0,8	0,5				8,2	1,4	35	B
12	21. I.	104,0	4,7	4,6	3,9		0,3	1,2	2,9	1,7	1,2	0,8	**3,1**	1,9	0,9	14,0	1,5	49	A
13	21. I.	92,0	1,6	1,1	0,7		0,7	0,8	0,3	0,2	0,1	0,1	0,7	1,1	**1,2**	5,2	0,6	49	B
14	28. I.	72,0	3,0	2,8	2,0		0,5	0,2	0,2	1,1	**1,7**	1,6				5,3	0,9	56	B
19	16. II.	73,3	1,8	1,0	1,2		1,5	1,4	1,2	2,8	**4,7**	2,7				14,3	2,4	75	B
20	21. II.	38,5	6,1	4,8	6,1		1,7	1,2	1,7	1,1	1,2	3,9	8,6	**12,3**		31,7	4,0	80	A
21	25. II.	15,0	—	6,8	6,2		3,0	4,1	5,6	**12,3**						25,0	6,2	84	A
	Durchschnitt:		5,0	4,9	4,0		1,8	1,5	1,7	2,6	2,2	3,0	4,3	**5,1**		16,9	2,6		

Die Maximalwerte sind durch fetten Druck hervorgehoben.

Abb. 1 enthält außer den neun Kurven des Ablaufs der normalen Euphyllindiurese nach intramuskulärer Injektion von 0,12 g Euphyllin eine gestrichelte Kurve, welche den durchschnittlichen Wert von allen Versuchen darstellt. Die Diurese bei diesen entnervten Tieren ist eine sehr viel größere als diejenige, welche in den zahlreichen früheren Beobachtungen mit der gleichen Methode im hiesigen Institut gemacht worden war. Daß dies im Zusammenhang mit der Entnervung geschah, wird schon dadurch wahrscheinlich gemacht, daß auch die normale, unbeeinflußte Diurese viel größer ist. Die Werte von 30 und 32 ccm Harn pro 10 Minuten gehören wohl unter den obwaltenden Bedingungen zu den größten, welche überhaupt in der uns zugänglichen Literatur berichtet werden. Auch der Anstieg der Diurese sofort nach der Injektion ist in einer ganzen Anzahl der Fälle größer als bei den Tieren mit normalen Nerven.

Alle Versuche sind zwischen dem 11. und 69. Tage nach der vollständigen Entnervung angestellt worden. Bei einem der beiden Kaninchen blieb während der gesamten Beobachtungsdauer die veränderte Diurese in ihrer ganzen Stärke bestehen. Die Einzelheiten der Versuchsergebnisse gehen klar aus der Übersichtstabelle hervor.

Vollständig anders wird das Verhalten der Diurese, wenn gleichzeitig mit der intramuskulären Euphyllininjektion 100 ccm körperwarmes, destilliertes Wasser intraperitoneal eingeführt werden. Abb. 2 und Übersichtstabelle II berichten über zehn einschlägige Versuche, welche zwischen dem 32. und 84. Tage nach der vollständigen Entnervung ausgeführt worden waren.

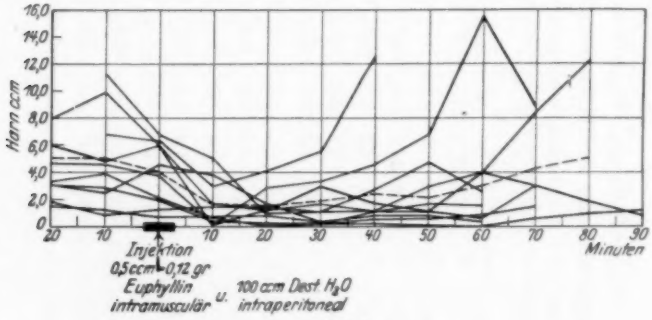


Abb. 2.

Das, was wir als das wichtigste Hauptergebnis unserer Untersuchungen bezeichnen können, geht mit größter Anschaulichkeit aus den Kurvenscharen der Abb. 2 hervor, wenn man sie mit der Abb. 1 vergleicht. Das Bild ist ein vollständig anderes. Sofort nach der intraperitonealen Injektion von destilliertem Wasser tritt, trotzdem das nachweislich so stark wirksame Euphyllin sich im Organismus befindet, eine vollständige Blockierung der Wirksamkeit desselben ein, ja es zeigt sich, daß sogar die an und für sich erhöhte normale Diurese unter ihr Niveau herabgedrückt wird, wie das auch klar aus der gestrichelten Kurve der durchschnittlichen Diurese aus allen zehn Versuchen hervorgeht. Im späteren Verlauf der Versuche kommt es zu der in der früheren Arbeit beschriebenen sekundären Diurese. Diese sekundäre Diurese tritt in einigen Versuchen erst nach der achten

Zehnminutenperiode auf, in anderen Versuchen etwas früher. Zum Teil wird dies wohl davon abhängen, mit welcher Geschwindigkeit der Gleichgewichtszustand der Zusammensetzung der Bauchhöhlenflüssigkeit erreicht ist. Wir fanden bei Untersuchung derselben nach einer Stunde, daß sie blutisotonisch geworden war und 0,587 % Kochsalz enthielt.

Es ist klar, daß der Ausfall dieser Versuche in strengster Weise die Möglichkeit ausschließt, daß die Blockierung der Diurese durch eine reflektorisch bedingte Gefäßverengerung in der Niere infolge des Reizes des destillierten Wassers veranlaßt worden sei. Gefäßverengende Impulse konnten die Nieren dieser beiden Tiere nicht mehr erreichen. Die Blockierung muß demnach auf dem anderen Moment beruhen, welches in unseren Versuchsbedingungen vorliegt, der Ablenkung der Elektrolyte aus dem Blute in die Bauchhöhle.

Um zu zeigen, daß trotz individueller Unterschiede der Kaninchen A und B bei beiden Tieren die Ergebnisse dem Wesen nach genau die gleichen sind, haben wir die Übersichtstabelle III angelegt, in welcher vergleichend für Kaninchen A und B getrennt die durchschnittlichen Werte der normalen und blockierten Euphyllindiurese wiedergegeben sind.

Kaninchen A war ein großes, sehr kräftiges graues Kaninchen von 3,2 kg. Gewicht und in hohem Maße dauernd zu Diureseversuchen geeignet. Die durchschnittliche Zehnminutenharnmenge vor jedem Eingriff, abgesehen von der totalen Entnervung, betrug 6,3 ccm, eine typische Polyurie infolge der Entnervung. Nach Euphyllininjektion wurde ein durchschnittlicher Zehnminutenwert von 14,0 ccm erreicht. In fünf Versuchen mit gleichzeitiger Euphyllin- und intraperitonealer Wasserinjektion fiel dieser Wert auf 4,2 ccm. Das größte Maximum bei der normalen Euphyllindiurese war 21,2 ccm, dasjenige der sekundären Diurese nach der Blockierung nur 7,1 ccm. 111,8 ccm war die Gesamtharnmenge bei normaler Euphyllindiurese, 33,6 ccm bei der blockierten Euphyllindiurese und der nachfolgenden Sekundärdiurese.

Übersichtstabelle III.

Euphyllindiurese. Kaninchen mit entnervten Nieren.

Zusammenfassung der Harnausscheidung in 10-Minuten-Perioden.

3. Durchschnitte:

1. Normale Euphyllindiurese nach Injektion von 0,5 ccm = 0,12 g.
2. Blockierte Euphyllindiurese nach gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von 100 ccm destillierten Wassers.

Nr.	10	10	10	Injekt. ↓	10	20	30	40	50	60	70	80	Zahl der Versuche	Gesamtharnmenge ccm	Harnmenge 10 Min. vor der Injekt: ccm	Harnmenge 10 Min. nach der Injekt. ccm
								Kaninchen A.								
1	6,7	5,9	5,8		16,1	**21,2**	16,6	15,9	14,7	10,5	9,1	8,7	5	111,8	6,1	14,0
2	6,2	7,5	5,8		2,1	2,1	3,0	4,2	3,1	6,1	5,9	**7,1**	5	33,6	6,5	4,2
								Kaninchen B.								
1	4,6	5,3	3,8		8,0	**10,5**	8,8	6,4	5,2	7,4	7,9		4	54,2	4,6	7,7
2	2,6	2,3	2,1		1,5	0,8	0,5	1,1	**1,6**	1,2	1,2		5	7,8	2,3	1,1

Die Maximalwerte sind durch fetten Druck hervorgehoben.

Kaninchen B war ein mittelgroßes, grau-weißes Kaninchen von 2,6 kg Gewicht. Es lieferte vor jeder Injektion durchschnittlich je 3,3 ccm Harn in 10 Minuten der beiden Vergleichsreihen. Die durchschnittliche Harnmenge pro 10 Minuten nach bloßer Euphyllininjektion betrug 7,7 ccm, während sie auf 1,1 ccm bei der blockierten Euphyllindiurese sank. Die maximalen Werte in beiden Reihen betrugen 10,5 bzw. 1,6 ccm und die gesamte Harnmenge, die bei der normalen Euphyllindiurese sich auf 54,2 ccm belief, sank bei der blockierten Diurese auf 7,8 ccm. Unabhängig von den absoluten Ausscheidungsmöglichkeiten durch die Niere, zeigen beide Versuchstiere den gleich stark ausgeprägten Blockierungseffekt.

Unsere Versuche gaben uns Gelegenheit, die normale Euphyllindiurese bei total entnervten Nieren mit denselben chemischen und physikalisch-chemischen Methoden genauer zu untersuchen, wie dies in der früheren Arbeit des einen von uns geschehen ist. Als Beispiel geben wir von Kaninchen A Abb. 3 und Tabelle I und von Kaninchen B Abb. 4 und Tabelle II.

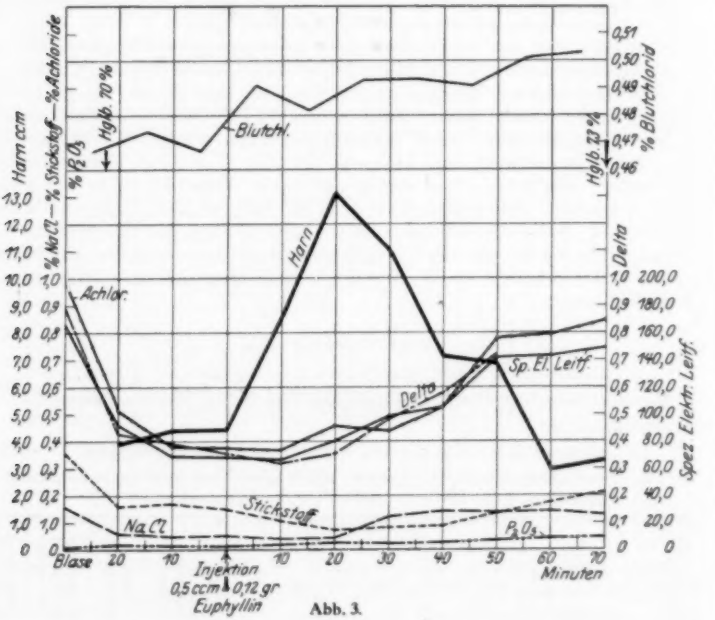


Abb. 3.

Im wesentlichen verlaufen die Erscheinungen, wie sie in den vorauf-gehenden Arbeiten beschrieben worden sind. Bei beiden Tieren kommt es zu einem merklichen Anstieg der Blutchloride, namentlich bei Kaninchen A. Das Bild der Harnabsonderung wird beherrscht durch Ausscheidung von Wasser und Elektrolyten, der Chloride und der Achloride. In einem gewissen Gegensatz zu den früheren Beobachtungen ist die gesteigerte Ausscheidung der Achloride ganz besonders ausgesprochen, was möglicherweise in einem gewissen Zusammenhang mit den Folgen der totalen Entnervung

steht. Die Harnstoffausscheidung zeigt keine Besonderheiten. Die Phosphate, deren Ausscheidungsverhältnisse in unseren früheren Arbeiten nicht verfolgt wurden, verhielten sich ziemlich genau wie die Chloride. Wir wollen hier nur den Fall des Tieres A besprechen. Die durchschnittliche Phosphatausscheidung im unbeeinflußten Zustande beträgt 0,7 mg pro 10 Minuten. Nach der Injektion erhebt sie sich auf 3,8 mg, um allmählich wieder zu sinken, ist aber am Ende des Versuchs immer noch zweimal höher als im Normalzustande.

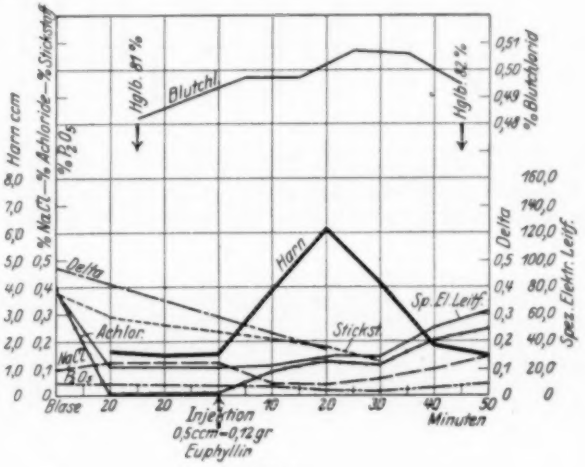


Abb. 4.

Solche Versuche, wie sie eben beschrieben worden sind, könnten dazu benutzt werden, um zur Analyse der Folgen der totalen Entnervung beizutragen. Zu diskutieren wären die Unterdrückung aller vasomotorischen Einflüsse, insbesondere der Wegfall jeder nervös bedingten Gefäßverengerung und das Fehlen eines eventuellen nervösen Einflusses sekretorischer Art, der im Falle der Niere als eine reinere Permeabilitätsregulierung ihres autonomen Scheidevermögens anzusehen wäre. Ein näheres Eingehen hierauf an dieser Stelle möchten wir uns versagen, als beide Gesichtspunkte angesichts des Hauptproblems unserer Arbeit zurücktreten und als beide vielfach als hypothetisch angesehen werden. Auf die Gefäßerweiterung legen weder die Anhänger der älteren sekretorischen Theorie, noch die Anhänger der neueren Filtrationstheorie großes Gewicht. Es sei dahingestellt, ob dies zu recht oder zu unrecht geschieht. Aber auch der Anhänger einer sekretorischen Beeinflussung der Niere durch nervöse Impulse wird angesichts der Tatsache, daß bei unseren Versuchen der mächtige Faktor der Elektrolyte bei Vorhandensein von mobilisierbarem Wasser die Hauptrolle spielt, von den hier erhaltenen Versuchsdaten keinen entscheidenden Aufschluß erwarten. Wir möchten nur bemerken, daß manche unserer Beobachtungen dafür sprechen, daß doch die Permeabilität der Niere durch die Entnervung mit Rücksicht auf die quantitativen und zeitlichen Verhältnisse geändert erscheint, wenn Euphyllin einwirkt. Wenn sich bei weiteren Untersuchungen, die in Aussicht genommen sind, noch

Tabelle

Versuch 15. 2. Februar

Nummer der Harnprobe	Zeitintervall	Harnmenge in ccm	% NaCl im Harn	Gramm NaCl im Harn	Molare Konzentration des Harn-NaCl 1	α = Dissoziation des Harn-NaCl	Molekulare Konzentration der Harnchloride = C_{NaCl}	Na Cl-Moleküle und Ionen im Harn	% Stickstoff im Harn	Gramm Stickstoff im Harn	% P_2O_5 im Harn	Gramm P_2O_5 im Harn	Spezifisch-elektrische Leitfähigkeit 10^{-3}
1	Blase	91,5	0,107	0,0979	0,0183	0,917	0,0351	0,003 21	0,359	0,0329	0,0107	0,0098	166,89
2	20	8,7	0,058	0,0050	0,0099	0,935	0,0192	0,000 17	0,155	0,0135	0,0174	0,0015	90,90
3	10	4,4	0,049	0,0022	0,0084	0,942	0,0163	0,000 07	0,170	0,0075	0,0143	0,0006	68,77
4	10	4,4	0,053	0,0023	0,0091	0,940	0,0177	0,000 08	0,148	0,0065	0,0143	0,0006	68,29
												Injektion	0,12 g
5	10	8,5	0,044	0,0037	0,0075	0,945	0,0146	0,000 12	0,108	0,0092	0,0181	0,0015	65,93
6	10	13,1	0,048	0,0063	0,0082	0,942	0,0159	0,000 21	0,074	0,0097	0,0288	0,0038	80,34
7	10	11,0	0,126	0,0139	0,0216	0,911	0,0413	0,000 45	0,082	0,0091	0,0252	0,0028	97,48
8	10	7,1	0,149	0,0106	0,0255	0,906	0,0486	0,000 35	0,093	0,0066	0,0282	0,0020	104,67
9	10	6,9	0,141	0,0097	0,0241	0,908	0,0460	0,000 32	0,136	0,0094	0,0385	0,0027	141,48
10	10	3,0	0,148	0,0044	0,0253	0,906	0,0482	0,000 14	0,175	0,0053	0,0468	0,0014	143,66
11	10	3,3	0,132	0,0044	0,0226	0,910	0,0432	0,000 14	0,213	0,0070	0,0480	0,0016	148,97

Tabelle

Versuch 17. 10. Februar

Nummer der Harnprobe	Zeitintervall	Harnmenge in ccm	% NaCl im Harn	Gramm NaCl im Harn	Molare Konzentration des Harn-NaCl 1	α Dissoziation des Harn-NaCl	Molekulare Konzentration der Harnchloride = C_{NaCl}	Na Cl-Moleküle und Ionen im Harn	% Stickstoff im Harn	Gramm Stickstoff im Harn	% P_2O_5 im Harn	Gramm P_2O_5 im Harn	Spezifisch-elektrische Leitfähigkeit 10^{-3}
1	Blase	22,5	0,096	0,0216	0,0164	0,921	0,0313	0,000 70	0,380	0,0855	0,052	0,011 70	77,76
2	10	1,6	0,123	0,0020	0,0210	0,912	0,0402	0,000 06	0,290	0,0046	—	—	22,24
3	10	1,5	0,124	0,0019	0,0212	0,911	0,0405	0,000 06	—	—	0,045	0,000 68	22,50
4	10	1,6	0,122	0,0020	0,0209	0,912	0,0399	0,000 06	—	—	0,046	0,000 74	22,66
												Injektion	0,12 g
5	10	3,9	0,049	0,0019	0,0084	0,940	0,0163	0,000 06	—	—	0,041	0,001 60	23,85
6	10	6,1	0,043	0,0026	0,0074	0,943	0,0144	0,000 09	0,183	0,0112	0,024	0,001 44	29,04
7	10	4,2	0,061	0,0026	0,0104	0,934	0,0203	0,000 09	0,138	0,0058	0,023	0,000 95	29,82
8	10	1,9	0,103	0,0020	0,0176	0,918	0,0338	0,000 06	—	—	0,037	0,000 70	51,01
9	10	1,5	0,150	0,0023	0,0256	0,906	0,0488	0,000 07	—	—	0,052	0,000 78	63,54

I.

1927. **Kaninchen A.**

Molare Konzentration als normales Na Cl $\mathfrak{z}$	α = Dissoziation der vorausgehenden Lösung	Molekulare Konzentration der Elektrolyte = C_e	Molare Konzentration der Achloride = $\mathfrak{z} - 1$	Molekulare Konzentration der Achloride = $C_e - C_{Na\,Cl} = C_a$	% Achloride als Na Cl berechnet	Delta = Δ	Molekulare Konzentration = $\Delta : 1{,}85 = C_o$	$C_e : C_o$ = % Elektrolyte	$C_a : C_e$ = % Achloride	Gesamtmoleküle im Harn = T_o (Gesamtmolekulare Konzentration × ccm Harn)	Anorgan. Moleküle im Harn = T_a	Organ. Moleküle im Harn $T_o - T_a = T_{org.}$	Konzentration der organischen Moleküle
0,1883	0,808	0,3402	0,1700	0,3051	0,995	0,892	0,4822	70,5	89,5	0,044 12	0,031 13	0,012 99	0,1420
0,0983	0,846	0,1812	0,0884	0,1620	0,517	0,430	0,2324	77,9	89,3	0,002 02	0,000 58	0,000 44	0,0512
0,0734	0,858	0,1359	0,0650	0,1196	0,380	—	—	—	88,0	—	0,000 60	—	—
0,0730	0,859	0,1356	0,0639	0,1179	0,374	—	—	—	86,9	—	0,000 60	—	—
Euphyllin intramuskulär.													
0,0702	0,862	0,1309	0,0627	0,1163	0,368	0,320	0,1730	75,7	88,9	0,001 47	0,001 12	0,000 35	0,0421
0,0866	0,852	0,1606	0,0784	0,1447	0,459	0,353	0,1908	84,2	90,1	0,002 49	0,002 11	0,000 38	0,0302
0,1066	0,841	0,1963	0,0750	0,1550	0,439	0,481	0,2600	75,6	78,9	0,002 86	0,002 16	0,000 70	0,0637
0,1150	0,837	0,2112	0,0895	0,1626	0,524	0,581	0,3141	67,2	77,0	0,002 24	0,001 50	0,000 74	0,1029
0,1587	0,818	0,2882	0,1346	0,2422	0,786	0,724	0,3914	73,7	84,1	0,002 70	0,001 99	0,000 71	0,1032
0,1612	0,817	0,2930	0,1359	0,2448	0,794	—	—	—	83,6	—	0,000 88	—	—
0,1673	0,815	0,3019	0,1447	0,2587	0,846	—	—	—	85,8	—	0,001 00	—	—

II.

1927. **Kaninchen B.**

Molare Konzentration als normales Na Cl $\mathfrak{z}$	α = Dissoziation der vorausgehenden Lösung	Molekulare Konzentration der Elektrolyte = C_e	Molare Konzentration der Achloride = $\mathfrak{z} - 1$	Molekulare Konzentration der Achloride = $C_e - C_{Na\,Cl} = C_a$	% Achloride als Na Cl berechnet	Delta = Δ	Molekulare Konzentration = $\Delta : 1{,}85 = C_o$	$C_e : C_o$ = % Elektrolyte	$C_a : C_e$ = % Achloride	Gesamtmoleküle im Harn = T_o	Anorgan. Moleküle im Harn = T_a	Organ. Moleküle im Harn $T_o - T_a = T_{org.}$	Konzentration der organischen Moleküle
0,0833	0,854	0,1546	0,0669	0,1233	0,392	0,472	0,2551	60,6	79,7	0,005 74	0,003 48	0,002 26	0,1005
0,0222	0,910	0,0424	0,0012	0,0022	0,007	—	—	—	4,1	—	0,000 07	—	—
0,0225	0,910	0,0429	0,0013	0,0024	0,008	—	—	—	5,6	—	0,000 07	—	—
0,0227	0,909	0,0433	0,0018	0,0034	0,011	—	—	—	7,9	—	0,000 07	—	—
Euphyllin intramuskulär.													
0,0239	0,907	0,0456	0,0155	0,0293	0,091	—	—	—	64,3	—	0,000 18	—	—
0,0294	0,900	0,0558	0,0220	0,0414	0,129	0,173	0,0935	59,17	74,2	0,000 57	0,000 34	0,000 23	0,0377
0,0303	0,899	0,0575	0,0199	0,0372	0,117	—	—	—	64,7	—	0,000 24	—	—
0,0538	0,875	0,1010	0,0362	0,0672	0,212	—	—	—	66,6	—	0,000 19	—	—
0,0680	0,864	0,1269	0,0424	0,0781	0,248	—	—	—	61,6	—	0,000 19	—	—

mehr Anhaltspunkte nach dieser Richtung ergeben würden, so spräche das zugunsten der Annahme, daß die spezifischen Diuretica nicht bloß die Gewebe, die „Vornieren", in ihrer Permeabilität beeinflussen, sondern auch die Nierenzellen selbst.

In Abb. 5 und Tabelle III, sowie in Abb. 6 und Tabelle IV bringen wir zwei Beispiele der vollständigen Blockierung der Diurese nach Euphyllininjektion durch gleichzeitige intraperitoneale Injektion von destilliertem Wasser mit den genaueren analytischen Einzeldaten.

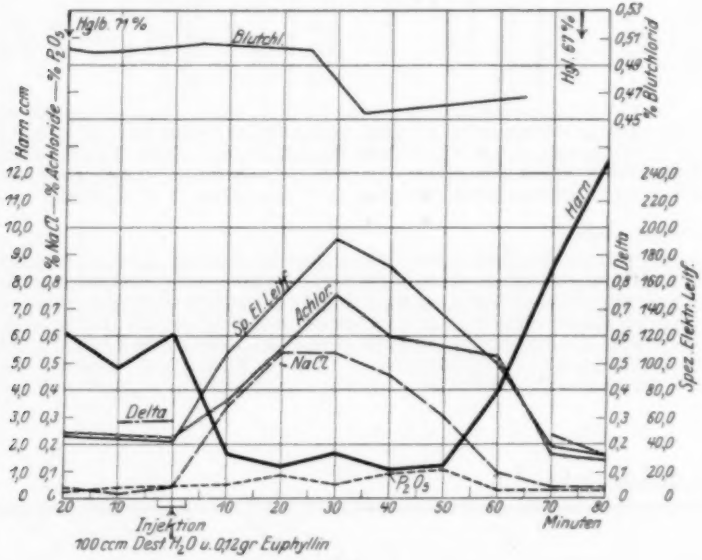


Abb. 5.

In allen wesentlichen Punkten sind, wie aus den beiden Abbildungen und Tabellen klar und einer Einzelerläuterung nicht bedürftig hervorgeht, die Tatsachen gleich. Der Unterschied besteht überwiegend in den zeitlichen Verhältnissen, in dem im zweiten Versuch (Versuch 21) die Blockierung eine kürzere ist. Deshalb sei nur der Versuch 20, der als ein klassischer Blockierungsversuch bezeichnet werden darf, der Besprechung zugrunde gelegt. Vor jedem Eingriff sehen wir die gesteigerte Normaldiurese, die Folge der totalen Entnervung. Mit der Euphyllininjektion und der gleichzeitigen intraperitonealen Wasserinjektion folgt ein steiler Abfall der abgesonderten Harnmengen, und 50 Minuten lang ist nicht bloß absolut keine Spur von gesteigerter Diurese, sondern die Harnabsonderung bleibt tief unter dem normalen Niveau. Demnach ist durch die Ablenkung der Elektrolyte in die Bauchhöhle nicht bloß die Euphyllinwirkung vollständig blockiert, sondern auch die gesteigerte Normaldiurese wesentlich herabgesetzt, ein recht deutliches Zeichen dafür, wie sekundär der Einfluß der vermutlich bestehenden Gefäßerweiterung in der Niere ist. Die Ablenkung der Elektrolyte tut sich in diesem und noch mehr im zweiten Versuch an

der Verminderung der Blutchloride kund. Der Verlauf der Blutchloridkurven ist in diesen Versuchen ebenso genau der entgegengesetzte, wie derjenige bei den voraufgehenden normalen Euphyllindiuresen. Die starke Ablenkung der Elektrolyte in die Bauchhöhle haben wir, wie in allen unseren anderen Versuchen, durch die Analyse der wiedergewonnenen Bauchhöhlenflüssigkeit bestätigt. Mit der starken Verminderung der Harnabsonderung geht Hand in Hand eine Konzentrationssteigerung der Chloride und Achloride im Harn, die aber trotzdem nicht zu einer vermehrten

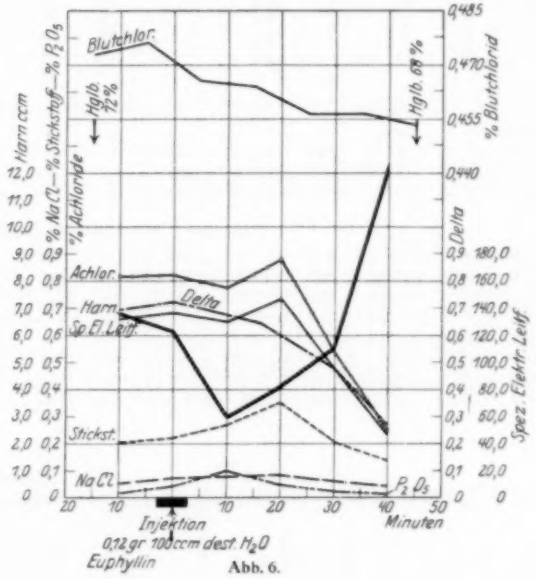


Abb. 6.

Gesamtausscheidung führt, vielmehr ist dieselbe ganz erheblich herabgesetzt. Sobald die sekundäre Diurese einsetzt, die im vorliegenden Falle sehr erheblich ist, sinken die Konzentrationen, aber es besteht die Tendenz zur Steigerung der Gesamtmenge. Das gilt namentlich hinsichtlich der Phosphate und der Achloride. Die Achloridausscheidung während der sekundären Diurese tritt stark in den Vordergrund. Es kommen dafür andere Stoffe als die Phosphate in Betracht, da nach unseren Analysen die letzteren nicht entfernt zur Deckung des Achloridbetrages hinreichen.

Die Aufgabe, welche wir uns in der vorstehenden Arbeit gestellt hatten, betrachten wir als gelöst. Es galt zu untersuchen, ob die intraperitoneale Injektion von destilliertem Wasser, die uns zur Untersuchung der Bedeutung namentlich der Elektrolyte des Blutes für die Diurese diente, nicht etwa ihren starken hemmenden Einfluß infolge reflektorischer Verengerung der Nierengefäße bewirkte. Dies wurde entscheidend durch die dauernde Aufrechterhaltung dieser Blockierung

Tabelle

Versuch 20. 21. Februar

Nummer der Harnprobe	Zeitintervall	Harnmenge in ccm	% NaCl im Harn	Gramm NaCl im Harn	Molare Konzentration des Harn-NaCl 1	α = Dissoziation des Harn-NaCl	Molekulare Konzentration der Harnchloride = C_{NaCl}	NaCl-Moleküle und Ionen im Harn	% Stickstoff im Harn	Gramm Stickstoff im Harn	% P_2O_5 im Harn	Gramm P_2O_5 im Harn	Spezifisch-elektrische Leitfähigkeit
0	Blase	38,5	0,165	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	10	6,1	0,043	0,0026	0,0073	0,944	0,0142	0,000 09	—	—	0,030	0,0018	47,20
2	10	4,8	0,025	0,0012	0,0043	0,953	0,0084	0,000 04	—	—	0,036	0,0017	—
3	10	6,1	0,041	0,0025	0,0070	0,945	0,0136	0,000 08	—	—	0,043	0,0026	44,46
							Injektion 100 ccm destiliertes H_2O intraperitoneal						
4	10	1,7	0,336	0,0057	0,0574	0,872	0,1076	0,000 18	—	—	0,050	0,0009	108,04
5	10	1,2	0,537	0,0065	0,0918	0,849	0,1700	0,000 20	—	—	0,084	0,0010	—
6	10	1,7	0,536	0,0091	0,0916	0,850	0,1696	0,000 29	—	—	0,058	0,0010	191,51
7	10	1,1	0,453	0,0050	0,0774	0,858	0,1439	0,000 16	—	—	0,093	0,0010	170,02
8	10	1,2	0,301	0,0036	0,0514	0,877	0,0964	0,000 12	—	—	0,117	0,0014	—
9	10	3,9	0,100	0,0039	0,0171	0,918	0,0328	0,000 13	—	—	0,046	0,0018	98,36
10	10	8,6	0,046	0,0040	0,0079	0,942	0,0153	0,000 13	—	—	0,045	0,0039	35,68
11	10	12,3	0,038	0,0047	0,0065	0,946	0,0127	0,000 16	—	—	0,036	0,0044	30,29

Tabelle

Versuch 21. 25. Februar

Nummer der Harnprobe	Zeitintervall	Harnmenge in ccm	% NaCl im Harn	Gramm NaCl im Harn	Molare Konzentration des Harn-NaCl 1	α = Dissoziation des Harn-NaCl	Molekulare Konzentration der Harnchloride = C_{NaCl}	NaCl-Moleküle und Ionen im Harn	% Stickstoff im Harn	Gramm Stickstoff im Harn	% P_2O_5 im Harn	Gramm P_2O_5 im Harn	Spezifisch-elektrische Leitfähigkeit 10^{-3}
1	10	6,8	0,054	0,0037	0,0092	0,937	0,017 81	0,000 12	0,204	0,0139	0,021	0,001 43	133,55
2	10	6,2	0,075	0,0047	0,0128	0,928	0,024 68	0,000 15	0,224	0,0139	0,046	0,002 85	136,86
							Injektion 100 ccm destilliertes H_2O intraperitoneal						
3	10	3,0	0,081	0,0024	0,0138	0,926	0,026 57	0,000 08	0,273	0,0082	0,092	0,002 75	130,96
4	10	4,1	0,087	0,0036	0,0149	0,923	0,028 64	0,000 12	0,351	0,0144	0,050	0,002 03	147,38
5	10	5,6	0,067	0,0038	0,0115	0,932	0,022 22	0,000 12	0,212	0,0119	0,028	0,001 58	95,70
6	10	12,3	0,044	0,0054	0,0075	0,941	0,014 55	0,000 18	0,146	0,0179	0,020	0,002 43	47,76
												Wiedererhaltene	
	60	10,0	0,587	—	0,1004	0,844	0,185 20	—	0,240	—	0,009	—	118,16

III.
1927. **Kaninchen A.**

Molare Konzentration als normales NaCl =	α = Dissoziation der vorausgehenden Lösung	Molekulare Konzentration der Elektrolyte = C_e	Molare Konzentration der Achloride = = 1	Molekulare Konzentration der Achloride $C_e - C_{NaCl} = C_a$	% Achloride als NaCl berechnet	Delta = Δ	Molekulare Konzentration $= \Delta \div 1{,}85 = C_o$	$C_e \div C_o$ = % Elektrolyte	$C_a \div C_e$ = % Achloride	Gesamtmoleküle im Harn = T_o	Anorganische Moleküle im Harn = T_a	Organische Moleküle im Harn $T_o - T_a = T_{org.}$	Konzentration der organischen Moleküle
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,0490	0,878	0,0919	0,0417	0,0777	0,244	—	—	—	71,5	—	0,00055	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,0461	0,881	0,0867	0,0391	0,0731	0,228	0,287	0,1551	55,9	84,3	0,00095	0,00053	0,00042	0,0684
und 0,12 g Euphyllin intramuskulär.													
0,1192	0,834	0,2184	0,0618	0,1108	0,362	—	—	—	50,6	—	0,00037	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,2198	0,799	0,3904	0,1282	0,2308	0,750	—	—	—	59,1	—	0,00066	—	—
0,1804	0,811	0,3268	0,1030	0,1829	0,602	—	—	—	55,9	—	0,00036	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,1074	0,840	0,1979	0,0903	0,1651	0,528	—	—	—	83,4	—	0,00077	—	—
0,0366	0,891	0,0693	0,0287	0,0540	0,168	0,231	0,1249	55,5	72,9	0,00108	0,00060	0,00048	0,0556
0,0309	0,898	0,0586	0,0244	0,0459	0,143	0,162	0,0876	66,8	78,4	0,00108	0,00072	0,00036	0,0290

IV.
1927. **Kaninchen A.**

Molare Konzentration als normales NaCl =	α = Dissoziation der vorausgehenden Lösung	Molekulare Konzentration der Elektrolyte = C_e	Molare Konzentration der Achloride = = 1	Molekulare Konzentration der Achloride $= C_e - C_{NaCl} = C_a$	% Achloride als NaCl berechnet	Delta = Δ	Molekulare Konzentration $= \Delta \div 1{,}85 = C_o$	$C_e \div C_o$ = % Elektrolyte	$C_a \div C_e$ = % Achloride	Gesamtmoleküle im Harn = T_o	Anorganische Moleküle im Harn = T_a	Organische Moleküle im Harn $= T_o - T_a = T_{org.}$	Konzentration der organischen Moleküle
0,1493	0,822	0,2722	0,1401	0,2544	0,819	0,693	0,3746	72,7	93,6	0,00254	0,00185	0,00069	0,1024
0,1532	0,820	0,2778	0,1404	0,2541	0,821	0,720	0,3892	71,7	91,1	0,00242	0,00173	0,00069	0,1104
und 0,12 g Euphyllin intramuskulär.													
0,1463	0,823	0,2670	0,1325	0,2404	0,774	—	—	—	84,9	—	0,00080	—	—
0,1656	0,816	0,3005	0,1507	0,2719	0,882	—	—	—	90,4	—	0,00123	—	—
0,1043	0,842	0,1921	0,0928	0,1699	0,543	0,478	0,2584	74,3	88,4	0,00145	0,00108	0,00037	0,0663
0,0500	0,877	0,0938	0,0425	0,0792	0,249	0,270	0,1459	64,4	84,4	0,00179	0,00115	0,00064	0,0521
Flüssigkeit.													
0,1312	0,829	0,2399	0,0308	0,0547	0,181	0,534	0,2886	82,9	22,8	—	—	—	0,0587

an Tieren mit total entnervten Nieren ausgeschlossen. Nach Beseitigung dieses Einwandes bleibt die ursprüngliche Erklärung zu Recht bestehen, daß die geeignete Ablenkung der Elektrolyte in ein experimentelles Exsudat der Bauchhöhle die Wirkung der spezifischen Diuretica aufhebt. Der Parallelismus zwischen Blockierung der Diurese und Ablenkung von Elektrolyten wurde durch die Analysen des Blutes und der Bauchhöhlenflüssigkeit bewiesen, und sie tat sich in den Ausscheidungsverhältnissen des Harns kund. Unterbleibt nach Injektion des Euphyllins die gleichzeitige Wasserinjektion in die Bauchhöhle, so verlaufen alle von uns beobachteten und analysierten Erscheinungen der normalen Euphyllindiurese genau umgekehrt wie in den Blockierungsversuchen. Somit können wir nach dieser neuen Bekräftigung wohl mit Recht die Schlußfolgerung für die Erklärung der Wirkung spezifischer Diuretica unter normalen Bedingungen wiederholen. Die spezifischen Diuretica wirken, vorausgesetzt, daß mobilisierbares Wasser vorhanden ist und an der Mobilisierung nicht verhindert wird, und vorausgesetzt, daß die Nierenzellen normal sind, primär dadurch, daß sie wohl infolge Permeabilitätsänderung einen rasch erfolgenden Einstrom von Elektrolyten verursachten. Auf diese physiko-chemische Veränderung reagiert die normale Niere mit der entsprechenden Absonderung. Es liegen einige Anhaltspunkte dafür vor, allerdings sekundärer Natur, sowohl in unserer wie auch in der voraufgehenden Arbeit von *Raulston*, daß ein spezifisches Diureticum auch die Permeabilität der Nierenzellen beeinflussen kann. Doch bedarf der Gegenstand noch näherer Untersuchung.

Die sekundären Diuresen, welche wir in unseren Versuchen beobachteten, beruhten auf dem Einstrom der isotonisch gewordenen Bauchhöhlenflüssigkeit mit dem Blute. Alle Erscheinungen der sekundären Diurese verliefen konform den von uns gegebenen Erklärungen.

Es ist gelungen, die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica unter physiologischen Bedingungen zu erklären, ohne Zuhilfenahme der Annahmen der älteren sekretorischen Theorie und insbesondere ohne Zuhilfenahme der Annahme von Filtration und Rückresorption im Sinne der modernen mechanischen Theorie. Solches Gelingen spricht zugunsten der Auffassung einer mehr sekundären Bedeutung der Faktoren, auf welche die mechanische Theorie Gewicht legt.

Zusammengefaßt ist der wesentliche Inhalt der Arbeit der nachfolgende:

1. An Kaninchen mit vollständig entnervten Nieren wurde nach Injektion von destilliertem Wasser in die Bauchhöhle die oft untersuchte starke Euphyllindiurese vollständig blockiert. Hiermit war ausgeschlossen, daß bei der Hemmung reflektorische Gefäßverengerung im Spiele sei.

2. Auch die über die Norm gesteigerte unbeeinflußte Harnabsonderung bei totaler Nierenentnervung wurde durch das Bauchhöhlenexsudat vermindert.

3. Auf Grund der Analysen ließen sich alle Erscheinungen der Blockierung durch Ablenkung der Elektrolyte aus dem Körper in die Bauchhöhle erklären.

4. Die in den voraufgehenden Arbeiten gegebene Erklärung für die Wirkungsweise eines spezifischen Diureticums wurde bestätigt und die von der älteren sekretorischen und von der neueren mechanischen Theorie abweichende Auffassung der Harnabsonderung unter physiologischen Bedingungen gestützt.

Über zentrale Regulation des Wasserwechsels.

IV. Mitteilung:

Die Aufhebung der diuretischen Coffein- und Theobrominwirkung durch Zwischenhirnnarkose.

Von

Hans Molitor und **Ernst P. Pick.**

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 30. März 1927.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Einleitung.

In früheren Versuchen [*Molitor* und *Pick* (1)] wurde gezeigt, daß die Wasserdiurese von einer Zentralstelle beherrscht wird, die in das Zwischenhirn zu verlegen ist; dafür spricht insbesondere die Tatsache, daß die Harnausscheidung durch gewisse Narkotica, welche eine besondere Einwirkung auf das Zwischenhirn besitzen, z. B. Chloreton und Luminal, unterdrückt wird, während andere, die vorwiegend das Großhirn betäuben, wie Paraldehyd, die Diurese unbeeinflußt lassen oder sogar fördern. Diese Ansicht wird außerdem weitgehend gestützt durch die Versuche von *Mehes* und *Molitor* (2), die durch Stichverletzungen des linken medialen Hypothalamus den Eintritt der Pituitrinhemmung der Diurese verhindern konnten, und durch die klinischen Beobachtungen von *Hoff* und *Wermer* (3), daß während des Schlafes, in der Narkose, Hypnose und bei gewissen Gehirnerkrankungen die Einspritzung von Hypophysenextrakt ohne Einfluß auf die Harnabsonderung bleibt. Wenn auch diese letzteren Befunde streng genommen nur den zentralen Angriffspunkt des Hypophyseninkretes beweisen, so bilden sie doch gleichzeitig einen wichtigen Hinweis für eine zentrale Regulierung der Diurese überhaupt.

In der Absicht, diese Annahme noch anderweitig zu stützen, untersuchten wir, ob die Wirkung gewisser harntreibender Mittel,

z. B. der Coffein- und Theobrominpräparate, durch Betäubung des Zwischenhirns und die damit erfolgte Ausschaltung des Diurese-zentrums vermindert würde oder ganz ausbliebe. Gerade der Umstand, daß der Angriffspunkt dieser kräftigen Diuretica vornehmlich in der Peripherie zu liegen scheint und mithin durch die selektive Zwischenhirnnarkose kaum betroffen wird, schien uns die Möglichkeit zu gewähren, aus dem Ablauf der Diurese in Chloreton- oder Isopralnarkose genaueren Einblick in die Stärke und in den Ausdehnungsbereich des zentralen Einflusses auf die Wasserdiurese zu gewinnen.

Im Gegensatz zu Hunden ist bekanntlich bei Kaninchen die diuretische Wirkung der Coffein- und Theobrominpräparate besonders deutlich ausgesprochen; wir untersuchten daher an diesen Tieren, ob die Coffein- und Theobromindiurese durch jene Narkotica beeinflußt werden könnte, die nach unseren Untersuchungen die Erregbarkeit des Wasserzentrums herabsetzen. Hierzu gehören *Chloreton*, *Isopral*, *Luminal* und die *Baldrianpräparate*. Als Kontrolle dafür, daß nicht die Narkose als solche und die mit ihr einhergehende Änderung aller Zellfunktionen die Ursache der eingeschränkten Harnabsonderung sei, diente uns *Paraldehyd*, das als Narkoticum mit vorwiegender Großhirnwirkung bekanntlich die Diurese der Kaninchen entweder ganz unbeeinflußt läßt oder sogar steigert; überdies trachteten wir, immer nur die kleinsten, eben wirksamen Mengen der Hypnotica zu verwenden, Mengen, die vielfach nicht dazu ausreichten, wirklichen Schlaf herbeizuführen.

Versuche.

1. Die Coffein- und Theobrominwirkung bei Chloretonbetäubung.

Die Technik dieser und aller folgenden Versuche glich der in unseren früheren Mitteilungen beschriebenen und bestand im wesentlichen darin, daß nach Eingießen von 100 ccm Wasser mittels Schlundsonde die Harnmenge normaler Kaninchen in halbstündigen Abständen durch Abpressen der Blase gemessen wurde. Sobald die Tiere auf gleichbleibende Normalwerte eingestellt waren, wurden die gleichen Versuche nach Darreichung der betreffenden Schlafmittel allein sowie in Verbindung mit Coffein oder Theobromin vorgenommen. Die Mittel wurden teils per os gegeben, teils subkutan oder intravenös injiziert, um dem Einwand zu begegnen, daß die gefundenen Unterschiede durch Verschiedenheiten der Resorption bei den mit Schlafmitteln vorbehandelten Tieren bedingt wären. Der Raumersparnis wegen geben wir die Diuresekurven nur je eines Coffein- und Theobrominversuchs wieder (Abb. 1 und 2) sowie in tabellarischer Zusammenstellung die ausgeschiedene Harnmenge der Kaninchen in Wasserversuchen, Coffein- und Coffein-Chloretonversuchen (Tabelle I).

Tabelle I.

Tier	Gewicht	Während der gleichen Beobachtungszeit ausgeschiedene Harnmenge		
		unbehandelt im Wasserversuch	im Coffeinversuch	im Coffein-Chloretonversuch
Nr.	g	ccm	ccm	ccm
14	1800	73	113	2,5
2	2100	29	108	13,5
9	2700	45	128	5,5
18	2000	76	185	22,5
24	3100	60	82	14,5
953	2900	68	121	50,0

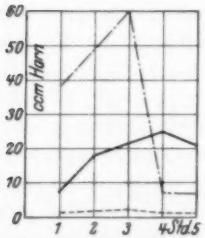


Abb. 1. Kaninchen Nr. 14, 1800 g Gewicht.
——— 100 ccm Wasser (7. Mai).
–·–·–·– 100 ccm Wasser mit 0,4 g Coffein natr. benz. (8. Mai).
– – – – – 100 ccm Wasser mit 0,4 g Coffein natr. benz. und 0,5 g Chloreton (11. Mai).

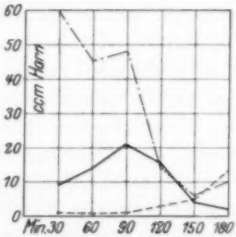


Abb. 2. Kaninchen Nr. 18, 2000 g Gewicht.
——— 100 ccm Wasser (4. Juni).
–·–·–·– 100 ccm Wasser mit 1,5 g Theobromin natr. salicyl. (25. Mai).
– – – – – 100 ccm Wasser mit 1,5 g Theobromin natr. salicyl. und 0,5 g Chloreton (26. Mai).

Die angeführten Versuche zeigen, daß Chloreton nicht nur die durch Coffein erzeugte Vermehrung der Harnmenge vollständig unterdrückt, sondern daß die Harnsekretion selbst hinter den in der Norm ausgeschiedenen Werten weit zurückbleibt. *Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, daß Chloreton die diuretische Wirkung des Coffeins und Theobromins vollständig aufheben kann.*

2. Diuresevesuche mit Isopral und Luminal.

Die Wirkung des Isoprals auf das Wasserzentrum ist viel schwächer als jene des Chloretons; der gleiche Wirkungsunterschied ist übrigens auch bei der Beeinflussung des Brechzentrums durch beide Narkotica zu beobachten, wie der eine von uns an Hunden zeigen konnte (4). Wie aus den nachfolgenden, gekürzt wiedergegebenen Versuchsprotokollen ersichtlich ist, wird die Diurese durch Isopral in manchen Fällen schon nach Darreichung von 0,06 bis 0,08 g pro Kilogramm Tier sehr deutlich gehemmt. In gleicher Weise kann, wie Versuch 5 zeigt, auch eine vollständige Unterdrückung der Coffeinwirkung mit dieser

Isopralmenge auftreten. In anderen Fällen jedoch, wie in Versuch 4, genügt wohl diese Menge, um die Steigerung der Diurese durch Coffein zu unterdrücken, nicht aber, um eine vollständige Hemmung herbeizuführen.

Versuchsprotokolle.

Versuch 1. Kaninchen 41, 2200 g Gewicht, erhält:

am 16. Juli 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen je 14, 16, 30, 20, 11 ccm; die gesamte 2½stündige Harnmenge mißt somit *91 ccm*.

am 18. Juli 100 ccm Wasser mit 0,25 g Isopral; die halbstündigen Harnmengen betragen je 2, 3, 2, 3, 2 ccm; die gesamte 2½stündige Harnmenge mißt somit *12 ccm*.

Versuch 2. Kaninchen 27, 1900 g Gewicht, erhält:

am 5. Juni 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen je 6, 5, 9, 11, 14, 7 ccm; die dreistündige Harnmenge mißt somit *52 ccm*.

am 13. Juni 100 ccm Wasser mit 0,3 g Isopral; die halbstündigen Harnmengen betragen 3, 1, 1, 6, 12, 16 ccm; die dreistündige Harnmenge mißt somit *39 ccm*.

Versuch 3. Kaninchen 32, 2000 g Gewicht, erhält:

am 5. Juni 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen je 2, 6, 10, 15, 20, 11 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *64 ccm*.

am 13. Juni 100 ccm Wasser mit 0,5 g Isopral; die halbstündigen Harnmengen betragen je 1, 1, 1, 1, 1, 4 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *9 ccm*.

Versuch 4. Kaninchen 6, 1900 g Gewicht, erhält:

am 25. Juni 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen je 2, 16, 37, 20, 10, 2 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *87 ccm*.

am 27. Juni 100 ccm Wasser mit 0,3 g Isopral; die halbstündigen Harnmengen betragen je 2, 1, 10, 13, 13, 12 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *51 ccm*.

am 30. Juni 100 ccm Wasser mit 0,3 g Isopral und 0,4 g Coffein natr. benz.; die halbstündigen Harnmengen betragen je 10, 15, 14, 20, 15, 17 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *91 ccm*.

Versuch 5. Kaninchen 953, 2900 g Gewicht, erhält:

am 30. Juni 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen je 15, 27, 11, 8, 3, 4 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *68 ccm*.

am 13. Juli 100 ccm Wasser mit 0,25 g Isopral und 0,4 g Coffein natr. benz.; die halbstündigen Harnmengen betragen je 2, 8, 2, 2, 2, 1 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *17 ccm*.

Die angeführten Isopralversuche sind gerade dadurch besonders bemerkenswert, daß sich das Isopral in den bei unseren Versuchen angewandten Dosen nur als sehr schwaches Schlafmittel erwiesen hat; keines der Versuchstiere verfiel in einen wirklichen Schlaf. *Daß aber die antidiuretische Wirkung mancher Hypnotica völlig unabhängig ist*

von ihrer eigentlichen Schlafwirkung, läßt sich in noch besserer Weise mit einem anderen Schlafmittel, dem *Luminal* zeigen; es gelingt mit diesem, bei Hunden die Diurese mit Mengen zu unterdrücken, welche weder Schlaf herbeiführen, noch das allgemein motorische Verhalten irgendwie sichtbar beeinflussen. Als Beispiele einer derartigen Wirkung seien im folgenden zwei von Versuchen an Blasenfistelhunden gewonnene Diuresekurven wiedergegeben.

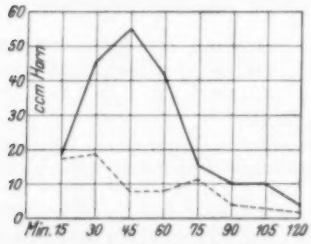


Abb. 3. Hund „Murl", 8500 g Gewicht.
——— 200 ccm Wasser (24. Februar).
– – – – – 200 ccm Wasser mit 0,2 g Luminalnatrium (25. Februar).
Die gesamte innerhalb 2 Stdn. ausgeschiedene Harnmenge beträgt am 24. Februar 198 ccm, am 25. Februar 72 ccm.

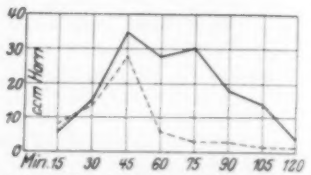


Abb. 4. Hund „Pudel", 12200 g Gewicht.
——— 200 ccm Wasser (24. Januar).
– – – – – 200 ccm Wasser mit 0,1 g Luminalnatrium (28. Januar).
Die gesamte innerhalb 2 Stdn. ausgeschiedene Harnmenge beträgt am 27. Januar 150 ccm, am 28. Januar 65 ccm.

Beide Kurven zeigen deutlich sowohl in ihrem Verlauf wie auch hinsichtlich der gesamten zur Ausscheidung gelangten Harnmenge die diuresevermindernde Wirkung des Luminals, obwohl keines der beiden Tiere auch nur die mindeste Schlaf- oder Beruhigungswirkung des Mittels aufwies.

3. Versuche mit Baldrian und Coffein.

In einer früheren Mitteilung (5) wurde festgestellt, daß Baldrian an Hunden zentral die Harnausscheidung hemmt; infolgedessen prüften wir, ob auch Kaninchen diesem Beruhigungsmittel gegenüber empfindlich wären. Es zeigte sich, daß das seinerzeit benutzte *Baldrianinfus* die Diurese der Kaninchen überhaupt nicht zu beeinflussen vermag, dagegen der *Bromisovaleriansäureborneolester* (*Valisan*) die Harnausscheidung, allerdings auch erst in größerer Dosis (0,6 bis 1,5 g pro Kilogramm), herabsetzt; *in dieser Menge ist das Präparat imstande, auch die Coffeindiurese zu hemmen*, wie die folgenden Protokolle zeigen.

Versuchsprotokolle.

Versuch 1. Kaninchen 46, 2200 g Gewicht, erhält:
am 4. Juni 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 2, 26, 11, 28, 25 ccm; die gesamte $2\frac{1}{2}$stündige Harnmenge mißt somit *92 ccm*.
am 13. Juni 100 ccm Wasser mit 2,5 ccm Valisan; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 2, 0,5, 0.5, 1, 1,5 ccm; die gesamte $2\frac{1}{2}$stündige Harnmenge mißt somit *5,5 ccm*.

Versuch 2. Kaninchen 18, 2000 g Gewicht, erhält:

am 4. Juni 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 9, 14, 21, 16, 4, 2 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *66 ccm*.

am 8. Juni 100 ccm Wasser mit 0,4 g Coffein natr. benz.; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 15, 30, 39, 20, 17, 15 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *136 ccm*.

am 13. Juni 100 ccm Wasser mit 0,4 g Coffein natr. benz. und 3 g Valisan; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 8, 17, 16, 11, 12, 5 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *69 ccm*.

In keinem der obigen Versuche war eine Schlafwirkung eingetreten, so daß das Ausbleiben der Coffeinpolyurie mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine selektive Beeinflussung des Diuresezentrums zurückgeführt werden kann.

4. Versuche mit Chloralhydrat und Coffein.

Bekanntlich hat *v. Schröder* zu zeigen versucht, daß die diuretische Coffeinwirkung durch die gleichzeitige Erregung des Vasokonstriktorenzentrums beeinträchtigt, ja sogar vollständig aufgehoben wird, da bei Herabsetzung der Empfindlichkeit dieses Zentrums durch Chloralhydrat oder Paraldehyd die Coffeinpolyurie deutlicher zutage tritt. Daß indes die Wirkung des Chloralhydrats auf das Vasokonstriktorenzentrum allein nicht für die Förderung der Coffeindiurese maßgebend sein kann, sollen die folgenden Versuche zeigen, in denen schlafmachende Dosen von Chloralhydrat die Coffeindiurese bei Kaninchen aufheben, wiewohl zweifellos das Vasokonstriktorenzentrum in seiner Empfindlichkeit sehr herabgesetzt worden ist. Als Beleg sei folgendes Protokoll angeführt:

Kaninchen 47, 1800 g Gewicht, erhält am 30. Juni 100 ccm Wasser; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 4, 13, 14, 20, 8, 14 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *73 ccm*. Am 2. Juli erhält das Tier 100 ccm Wasser mit 2 g Chloralhydrat per os und 0,3 g Coffein natr. benz. subkutan; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 22, 19, 22, 13, 16, 6 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *98 ccm*. Am 4. Juli erhält das Tier 100 ccm Wasser mit 4 g Chloralhydrat per os und 0,3 g Coffein natr. benz. subkutan; die halbstündigen Harnmengen betragen danach je 1, 1, 1, 2, 2, 10 ccm; die gesamte dreistündige Harnmenge mißt somit *17 ccm*. Das Kaninchen zeigte nach der Verabreichung von 2 g Chloralhydrat deutliche Schläfrigkeit, nach 4 g Chloralhydrat verfiel es in tiefen Schlaf.

Man ersieht, daß in Übereinstimmung mit *v. Schröders* Versuchen etwa 1 g Chloralhydrat pro Kilogramm das Eintreten der Coffeindiurese nicht hemmt, während am gleichen Tier die doppelte Chlorhydratmenge, die sicher das Vasokonstriktorenzentrum noch unerregbarer macht, nicht nur die Coffeinwirkung aufhebt, sondern eine ausgesprochene Harnsperre erzeugt. *Wir schließen aus diesem und ähnlichen*

Versuchen, daß Chloralhydrat in kleinen Dosen nur deswegen eine Förderung der Coffeindiurese hervorruft, weil es in diesen Mengen nur eine Großhirnrindennarkose und damit eine Enthemmung des Zwischenhirns erzeugt, während es in größerer Menge schon eine Narkose auch des letzteren und damit auch des Wasserzentrums bewirkt. Als weiterer Beweis dieser Auffassung können die im folgenden mitgeteilten Paraldehydversuche dienen.

Versuche mit Paraldehyd.

Ähnlich wie Chloralhydrat verhält sich in bezug auf die Coffeindiurese auch die Paraldehydnarkose, welche als vorwiegende Großhirnnarkose keine Hemmung des im Hirnstamm gelegenen Diuresezentrums bewirkt. *Daher sieht man, daß der Paraldehydschlaf, wenn er nicht allzu tief ist, mit einer Polyurie einhergeht, welche durch Enthemmung des Wasserzentrums von den Großhirnreizen entsteht.* Es ist daher erklärlich, daß Coffein im Paraldehydschlaf gut wirken wird, da es bei einem bereits enthemmten Zentrum die für die Hydrämie nötigen Flüssigkeitsmengen leichter aus den Gewebsdepots wird mobilisieren können; dagegen wird in einer *Schlafnarkose, welche durch Kombination des Großhirnnarkoticums Paraldehyd mit dem Hirnstammnarkoticum Chloreton erzeugt wird, die Coffeindiurese ausbleiben müssen,* da dann das Wasserzentrum ausgeschaltet ist und trotz des diuretischen Reizes des Coffeins keine Flüssigkeit in die Blutbahn abgegeben werden kann. Die in der Tabelle II angeführten Versuche bestätigen völlig diese Annahme.

Tabelle II.

Tier	Gewicht	Während der gleichen Beobachtungszeit ausgeschiedene Harnmenge			
		im Wasserversuch	im Coffeinversuch	im Coffein-Paraldehyd-versuch	im Coffein-Paraldehyd-Chloreton-versuch
Nr.	g	ccm	ccm	ccm	ccm
11	1900	66	144	88	4
945	2000	85	92	120	29
46	2200	36	—	122	39
33	1700	47	—	76	22
39	3400	65	—	119	27

Zusammenfassung.

Die vorstehende Tatsache, daß die *Coffein- und Theobromindiurese durch kleine, zur Gesamtnarkose ungenügende Gaben von Chloreton, Isopral, Luminal und Baldrian* aufgehoben werden kann, ist ein neuerlicher und deutlicher Hinweis auf die überragende Wichtigkeit des im Zwischenhirn (regio hypothalamica) gelegenen Diuresezentrums für den

Ablauf des gesamten Wasserwechsels. Da die genannten Zwischenhirnnarkotica schon in Mengen die Coffeindiurese aufheben, welche keine Allgemeinnarkose herbeiführen und die direkte Einwirkung auf eventuelle periphere Coffeinangriffspunkte, wie Gewebe und Niere, so gut wie ausschließen, ist das Ausbleiben der Diurese in unseren Versuchen darauf zurückzuführen, daß trotz des diuretischen — sei es nun auf die Niere oder auf die Gewebe gerichteten — Coffeinreizes die zum Einsetzen der Harnflut nötigen Vorbedingungen, wie die Wasser- und Salzmobilisierung in den Geweben, ausbleiben; denn durch die Zwischenhirnnarkose wird das Diuresezentrum ausgeschaltet und dadurch der sonst auf jeden adäquaten Reiz (in unserem Falle auf Coffein) einsetzende Wasser- und Salzaustausch zwischen Geweben und Blut lahmgelegt. Die Verstärkung der Coffeinwirkung durch Paraldehydschlaf oder durch Darreichung von Chloralhydrat in Mengen, welche nur Großhirnnarkose bewirken, findet ihre Erklärung in der dabei erfolgten Enthemmung des Zwischenhirns. Ähnlich wie bei den *Sherrington*schen Pseudoschmerzreflexen sonst wirkungslose Berührungen nach Wegfall der Großhirnhemmung starke Reaktionen auslösen, wird auch das enthemmte Diuresezentrum auf diuretische Reize viel leichter und nachhaltiger ansprechen als das normale, ständig durch Großhirnimpulse gedämpfte. Daß bei einem Zusatz von Chloreton zum Paraldehyd und dadurch bewirkter Ausschaltung des Diuresezentrums die Coffeinwirkung ebenso ausbleibt, wie nach Chloreton allein, bedarf nach dem Vorstehenden keiner weiteren Erklärung. Die Tatsache, daß selbst so wirksame Diuretica, wie Coffein und Theobromin, deren Angriffspunkte nicht zentral, sondern peripher in der Niere oder in den Geweben gesucht werden, nicht mehr imstande sind, nach Betäubung des Zwischenhirns Harnflut zu bewirken, weil der Austausch von Flüssigkeit zwischen Geweben und Blut gestört ist und daher trotz des gleichgebliebenen Reizes auf die Gewebe die Abgabe von Flüssigkeit unterbleibt, scheint uns einer der stärksten Beweise für das Bestehen einer übergeordneten zentralen Diureseregulation zu sein. Neben dieser Bestätigung früher erhobener Befunde über die Bedeutung der zentralen Regulation des Wasserwechsels geben uns die vorstehenden Versuche aber auch die Möglichkeit, über den Angriffspunkt der diuretischen Wirkung des Theobromins und des Coffeins selbst einige Erwägungen anzustellen. Bisher wurde dieser ausausschließlich in die Peripherie verlegt; der Umstand aber, daß die Coffeindiurese nach Narkose des Diuresezentrums regelmäßig ausbleibt, könnte ungezwungen auch damit erklärt werden, daß dieses Zentrum selbst, dessen überragende Bedeutung für den Wasserwechsel feststeht, in gleicher Weise, wie es nach unseren Versuchen und neuen klinischen Beobachtungen von *Hoff* und *Wermer* (3) den unmittelbaren Angriffs-

punkt des *diuresevermindernden Pituitrins* darstellt, auch zum Teil jenen der *diuresefördernden Purinderivate* bildet. Die Entscheidung darüber, ob in Chloretonnarkose die Wirkung eines Diureticums deshalb ausbleibt, weil dem *peripher* angreifenden Mittel das zur Entfaltung der Wirkung nötige Wasser vom Zentrum nicht zur Verfügung gestellt wird, oder weil dem *zentral* angreifenden Mittel sein Angriffspunkt durch die Narkose entzogen wurde, wird sich nur schwer treffen lassen. Immerhin muß bei dem bisherigen Fehlen zwingender Nachweise einer *rein peripheren* diuretischen Coffeinwirkung die Möglichkeit eines *zentralen* Angriffspunktes auch in Betracht gezogen werden, zumal für andere, die Harnabsonderung beeinflussende Mittel ein solcher bereits einwandfrei nachgewiesen worden ist.

Schlußsätze.

1. Die Coffein- und Theobromindiurese der Kaninchen kann durch kleine, nicht schlafmachende Mengen von Chloreton und Isopral unterdrückt werden; in gleicher Weise wirken gewisse Baldrianpräparate in größerer, wenn auch noch nicht schlafmachender Menge.

2. Luminal vermag in kleinen, nicht narkotischen Gaben die Wasserdiurese des Hundes zu hemmen.

3. Chloralhydrat fördert in kleinen, jedoch bereits narkotischen Mengen (Großhirnnarkose) die Coffeindiurese; in größeren, tiefe Narkose (Zwischenhirnnarkose) erzeugenden Gaben hebt es dieselbe auf.

4. Paraldehyd als Großhirnnarkoticum fördert durch Enthemmung des Diuresezentrums die Coffeindiurese; gleichzeitige Darreichung von Paraldehyd und Chloreton hebt die Coffeindiurese vollständig auf.

5. Die vorstehenden Versuche zeigen, daß die Wirkung selbst der stärksten harntreibenden Mittel, wie der Körper der Purinreihe, maßgebend von dem Erregungszustand des in der medialen regio hypothalamica gelegenen Diuresezentrums abhängt.

Literatur.

1) *Molitor* und *Pick*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **107**, 185, 1925. — 2) *Mehes* und *Molitor*, Wien. klin. Wochenschr. **1926**, Nr. 50. — 3) *Hoff* und *Wermer*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **119**, 153, 1927. — 4) *Molitor*, ebendaselbst **113**, 102, 1926. — 5) *Derselbe*, ebendaselbst **113**, 171, 1926.

Über den Arginingehalt einiger Proteine sowie normaler und amyloidhaltiger Organe.

Von

Otto Fürth und **Otto Deutschberger.**

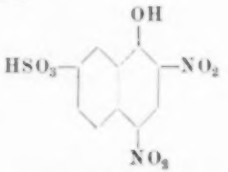
(Aus der Abteilung für physiologische Chemie im Wiener physiologischen Universitätsinstitut.)

(Ausgeführt mit Unterstützung der Notgemeinschaft der „Deutschen Wissenschaft" in Berlin.)

(Eingegangen am 31. März 1927.)

I. Richtlinien der Untersuchung.

Im Verlauf von Untersuchungen, die in Verfolgung stoffwechselphysiologischer Ziele in Angriff genommen worden waren, kam es uns darauf an, den Arginingehalt gewisser Proteine und Organe mit möglichster Genauigkeit festzustellen. Dabei wandte sich unsere Aufmerksamkeit naturgemäß *Kossels* neuer *Flaviansäuremethode* zu, welche einen sehr erfreulichen Fortschritt der Eiweißchemie darstellt. Dieselbe beruht darauf, daß das *Arginin* mit der Flaviansäure oder Dinitro-Naphtholsulfosäure



eine sehr schwer lösliche, schön kristallisierende Verbindung eingeht. Die Bestimmung des Arginingehalts eines Proteins erfolgt nun in der Weise, daß nach erfolgter Säurehydrolyse bei schwachsaurer Reaktion das flaviansaure Arginin gefällt und auf einem Goochtiegel gesammelt wird[1]).

Diese für die Argininbestimmung in reinen Eiweißkörpern angegebene Methode hat sich uns bei der Analyse solcher auch vollkommen

[1]) *A. Kossel* und *R. Gross*, Sitzungsber. d. Akad. Heidelberg 1923; Abstr. Physiol. Congr. Edinburgh 1923; Zeitschr. f. physiol. Chem. **135**, 167, 1924; *A. Kossel* und *F. Curtius*, ebendaselbst **144**, 283, 1925; *A. Kossel* und *W. Staudt*, ebendaselbst **156**, 270, 1926; vgl. auch *A. E. Pratt*, Journ. of biol. Chem. **67**, 351, 1926.

bewährt. Beim Versuch, dieselbe unmittelbar auf die Analyse von *Organen* zu übertragen, ergaben sich aber gewisse Schwierigkeiten. Wir gingen so vor, daß wir die Organe der totalen Salzsäurehydrolyse unterwarfen, die Salzsäure durch wiederholte Vakuumdestillation nach Möglichkeit beseitigten, den in Wasser aufgenommenen Rückstand mit Natronlauge bis zu schwach saurer Reaktion neutralisierten und sodann mit Flaviansäure auszufällen versuchten. Es stellte sich aber heraus, daß unter diesen Verhältnissen die Flaviansäure, wie leicht verständlich, nicht nur in stark verunreinigter Form ausfiel, sondern daß die Fällung unter Umständen auch eine sehr unvollständige war, ja zuweilen sogar ganz ausblieb. Es ergab sich sonach, daß in derartigen Organhydrolysaten, auch wenn man für die Beseitigung hoher Fettsäuren und ähnlicher grober Verunreinigungen Sorge trägt, Substanzen auftreten können, welche einer quantitativen Fällung von flaviansaurem Arginin entgegenwirken. Ähnliche Erfahrungen machten wir auch einmal, als wir in einem käuflichen, stark gefärbten Präparat von gepulvertem, wenig reinem Leim, das zu Fütterungszwecken dienen sollte, den Argininghalt zu bestimmen versuchten; die erwartete Fällung von flaviansaurem Arginin nach der Salzsäurehydrolyse blieb hier vollständig aus.

Derartige Erfahrungen haben uns nun bestimmt, die Methode von *Kossel* und *Gross* in einer abgeänderten Form anzuwenden: Das *Arginin wurde mit der Phosphorwolframsäurefraktion niedergeschlagen* und aus dieser mit Baryt in üblicher Weise in Freiheit gesetzt. Da es sich aber herausgestellt hat, daß es bei Verarbeitung kleiner Analysenquanten praktisch sehr schwierig ist, bei dieser Zerlegung Verluste zu vermeiden, gingen wir nun weiter, um diese auszuschalten, so vor, daß wir, in der Basenfraktion, die durch Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlages gewonnen worden war, mit möglichster Genauigkeit (stets wurden Doppelbestimmungen ausgeführt) die Relation $\frac{\text{Arginin-N}}{\text{Gesamtbasen-N}}$ bestimmten. Das war um so genauer möglich, da das aus der Basenfraktion mit Flaviansäure gefällte Arginin stets in schönen goldgelben Kristalldrüsen ausfiel, offenbar schöner, reiner und oft wohl auch vollständiger als aus der Mehrzahl unserer Salzsäurehydrolysate[1]).

[1]) Hydrolysiert man reine Proteinsubstanzen, wie dies *Kossel* und *Gross* mehrfach getan haben, statt mit Salzsäure mit *Schwefelsäure*, so dürfte dieser Unterschied weit weniger ins Gewicht fallen, da bei Beseitigung der Schwefelsäure mit Baryt die überaus voluminösen Niederschläge von Bariumsulfat nicht nur Melanine, sondern auch andere die Kristallisation der Flaviansäure verzögernde Substanzen mitreißen. Nun ist es, wie bekannt, keineswegs leicht, sondern nur durch besondere Sorgfalt und zeitraubende Prozeduren möglich, bei dieser Arbeitsart Verluste zu vermeiden, weswegen wir die Salzsäurehydrolyse entschieden vorgezogen haben.

Da wir uns nun aber nicht darauf verlassen konnten und wollten, bei der Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags Verluste vermieden zu haben, gingen wir nun weiter so vor, daß *wir im ursprünglichen Salzsäurehydrolysat den Basen-N* möglichst genau ermittelt haben (etwa nach *Osborne* und *Harris*). Aus der wie oben gefundenen Relation *Arginin-N*: Gesamt-N wurde nun weiter berechnet, wieviel von diesem Gesamt-Basen-N tatsächlich als *Arginin-N* gewertet werden durfte.

Es ist dies nun freilich ein Umweg, der sich uns aber beim Arbeiten mit Organhydrolysaten sehr bewährt hat, weshalb wir ihn mit Rücksicht auf die schönen und vertrauenerweckenden Argininflavianatkristallisationen, die dabei zutage traten, späterhin meist auch bei der Argininbestimmung in reinen Proteinen, wo er gewiß nicht unerläßlich ist, bevorzugt haben.

Wir gehen nunmehr zu der Beschreibung unserer an *reinen Proteinen* und *Geweben* gemachten Erfahrungen über. Wir haben die Gelegenheit weiterhin auch benutzt, um uns über die Frage, ob man berechtigt sei, bei der amyloiden Entartung eine Anreicherung der Gewebe an Arginin anzunehmen, zu orientieren. Anhangsweise sei die Frage erörtert, ob die bisher bekannten *Farbenreaktionen des Arginins*, insbesondere diejenige von *Sakaguchi* sowie die *Diacetylreaktion* eine ausreichende Basis bieten, um eine kolorimetrische Bestimmung darauf gründen zu können.

II. Methodische Versuche an Gelatinepräparaten.

Versuch A. $^1/_4$ kg reiner Gelatine wurde mit 1 Liter konzentrierter HCl unter Rückflußkühlung 16 Stunden lang gekocht. Die Salzsäure wurde durch Vakuumdestillation unter wiederholtem Wasserzusatz möglichst beseitigt; der dunkelgefärbte Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und mit 50 g Flaviansäure in 15% wässeriger Lösung mehrere Wochen lang stehengelassen. Es kam zu einer massenhaften Abscheidung braungelber, derber Krusten von undeutlich kristallinischer Struktur. Dieselben, abgenutscht, chlorfrei gewaschen und kurze Zeit bei 100° getrocknet, ergaben 57,1 g eines braunen Pulvers, woraus sich (Molekulargewicht des Argininflavianats 174 + 314 = 488) eine Ausbeute an Rohprodukt entsprechend 20,3 g Arginin ergibt.

Unter Berücksichtigung des hohen Wassergehalts (15,3%) dieses Leimes würde sich daraus eine Ausbeute von 9,4% Arginin ergeben, übereinstimmend mit dem sich aus Umrechnung der Analysenzahlen von *Kossel* und *Gross* ergebenden Werte von *9,4%*.

Zum Zwecke der *Identifizierung des Arginins* wurde die Rohfällung von flaviansaurem Arginin in Ammoniak leicht und vollständig gelöst und die Flaviansäure mit Barytwasser ausgefällt. Das argininhaltige Filtrat wurde mit Kohlensäure gesättigt, eingeengt, filtriert, das Filtrat (unter Tüpfelung gegen Barytwasser) mit einem Überschuß von Silbernitrat versetzt und mit einem Überschuß von Barytwasser das *Argininsilber* als

hellgelbbrauner Niederschlag ausgefällt. Dieser wurde mit Wasser barytfrei, dann mit Alkohol und Äther gewaschen. Die Ausbeute lufttrocken betrug 38,5 g, was etwa 15,2 g Arginin entspricht[1]). Das Silbersalz wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat vom Schwefelsilber mit Salpetersäure genau neutralisiert und zum Sirup eingeengt. Dieser erstarrte bei Winterkälte sehr schnell zu einem harten, aus Nadeln und Blättchen bestehenden Kristallkuchen von *Argininnitrat* (Ausbeute 14 g). Dieses wurde aus Alkohol umkristallisiert und durch N-Bestimmung[2]) identifiziert.

Gef.: N = 28,00%, berechnet für neutrales Argininnitrat $C_6H_{14}NO_2 . HNO_3 . \frac{1}{2} H_2O$ N = 28,45, für saures Argininnitrat $C_6H_{14}NO_2 . 2HNO_3$ N = 28,04 (nach *H. Steudel* in Abderhaldens Arbeitsmeth., Abt. I, Teil 7, S. 218, 1923).

Zum Vergleich wurden einige Versuche mit *reinem Argininnitrat* (von *Roche*, Basel) angestellt.

Eine Menge davon, entsprechend 0,0312 g freien Arginins wurde mit einem Überschuß 15% wässeriger Flaviansäurelösung gefällt. Der Niederschlag bestand aus zierlichen goldgelben rhombischen eingedellten Blättchen. Das Gewicht derselben, auf einem Goochfilter gesammelt, betrug gewogen 0,0876 g statt berechnet 0,0889 g.

Die Verbindung entspricht also tatsächlich der *molekularen Relation 1 Mol Arginin : 1 Mol Flaviansäure*.

Eine Beimengung der leicht in Wasser löslichen Flaviansäure zu einer Fällung ist mikroskopisch ohne weiteres leicht kenntlich, insofern dasselbe in feinen Nadeln von gelber Farbe kristallisiert, die sich zu länglichen Prismen und Stäben aneinander lagern. Eine auf 0,1% verdünnte Lösung von Argininnitrat ergab erst nach etwa 5 Stunden eine Fällung.

Versuch B. 20 g eines Gelatinepräparats mit HCl, 1,17 spezifisches Gewicht, 20 Stunden hydrolysiert und weiter wie oben verarbeitet, ergab eine Argininausbeute von nur 5,7%, also einen viel zu niedrigen Wert.

Versuch C. Ein Präparat stark gefärbten, gepulverten Leimes, das zu Fütterungszwecken dienen sollte, wurde mit Salzsäure hydrolysiert und in gleicher Weise wie Versuch A behandelt. Hier blieb die Flaviansäurefällung, die offenbar durch Verunreinigungen gehemmt wurde, *vollständig aus*.

Versuch D. 50 g reiner käuflicher Gelatine hydrolysiert; drei Portionen des Hydrolysats ergaben auf wasserfreie Substanz umgerechnet, Ausbeuten

8,2%, 8,3%, 9,4%.

Versuch E. 50 g Gelatine wurden mit HCl hydrolysiert, das Hydrolysat durch Vakuumdestillation unter zweimaligem Wasserzusatz von der Hauptmenge von Salzsäure befreit, der Rückstand sodann in Wasser gelöst. Die Lösung wurde in aliquote Teile geteilt. In einem derselben ergab die

---

[1]) Berechnet auf ein Gemisch gleicher Teile von

$C_6H_{12}Ag_2N_4O_2 . H_2O$ . . . . Ag = 53,15% } Mittel 58%
$C_6H_{11}Ag_3N_4O_2 . H_2O$ . . . . Ag = 63,00% }

[2]) *Kjeldahl* nach *Jodlbauer* (Treadwell, Analyt. Chem., 10. Aufl., 1922, S. 56), mit Zusatz von Phenolschwefelsäure, Zinkstaub und Platinchlorid.

direkte Fällung mit Flaviansäure eine Ausbeute von 8,2%. In einem anderen Teile wurde die Basenfraktion mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der auf der Nutsche abgetrennte Niederschlag in heißem Acetonwasser (4 Aceton : 3 H_2O) vollständig gelöst; die tiefbraune Lösung durch Barytwasser von PWS, das Filtrat mit H_2SO_4 von Ba befreit. Das klare, hellgelbe Filtrat wurde mit Natronlauge alkalisch, mit Essigsäure sauer gemacht, stark eingeengt, schließlich mit Flaviansäure ausgefällt. Die Kristallisation erfolgte in schönen goldgelben Drusen und Fächern. Ausbeute 7,5%.

Eine Menge von 2 g dieses Flavianats wurde in Ammoniak gelöst; die Lösung mit Baryt von Flaviansäure, mit CO_2 von Ba befreit und kjeldahlisiert. Der N-Gehalt ergab als Arginin berechnet, *0,68 g* Arginin. Die Berechnung für 2,00 g ergab (x : 2,00 = 174 : 488) 0,71 g Arginin; demnach ausreichende Übereinstimmung zur Kontrolle der Reinheit!

Versuch F. 12,5 g Leim mit HCl hydrolysiert und HCl im Vakuum beseitigt. Das zu schwach saurer Reaktion neutralisierte Filtrat (130 ccm) mit einer heißen Lösung von 3 g Flaviansäure in 30 ccm H_2O versetzt. Der ausfallende amorphe, dunkle, melanoidinhaltige Niederschlag heiß abfiltriert. Das Filtrat in einer flachen Schale in den Brutofen gestellt. Sehr bald begann die Kristallisation des Flavianats; neben drusigen Aggregaten rhombische Täfelchen mit abgestumpften Ecken. Ausbeute 9,7%.

Versuche G und H. Zwei in analoger Weise durchgeführte Versuche mit je 9,00 g reiner Gelatine heiß gefällt mit je 30 ccm Flaviansäure, 10% Ausbeute an goldgelbem Flavianat auf dem Goochtiegel:

a) 2,4235 g
b) 2,3870 g
} 2,405 g flaviansaures Arginin,

entsprechend (x : 2,405 = 174 : 488) 0,855 g Arginin für 9 g Leim, d. i. 9,5%.

Die so gewonnenen Werte stimmen sehr gut mit denjenigen von *Kossel* und *Gross* überein, die für den Argininstickstoff nach dem Flaviansäureverfahren = 16,45%, nach dem Silberbarytverfahren = 15,87% des Gesamt-N der Gelatine gefunden haben. Umgerechnet für Gesamt-N der Gelatine = 18,5%[1]) ergibt dies einen Argininwert von 9,4%. *Sakaguchi* (s. unten) findet nach seinem kolorimetrischen Verfahren (Arginin-N = 15,2% des Gesamt-N) 9,3% *Arginin*.

III. Arginingehalt einiger Proteine.

A. Hämoglobin.

2 Liter Pferdeblutkörperchen wurden mit Hilfe der Zentrifuge mit physiologischer Kochsalzlösung wiederholt sorgfältig gewaschen, schließlich in Wasser gelöst, die Lösung mit Ammonsulfat halb gesättigt, filtriert und das Filtrat zur Kristallisation gebracht. Die Kristalle wurden aus halbgesättigter Ammonsulfatlösung umkristallisiert, das schön kristallisierte Präparat wurde schließlich mit heißem Wasser sulfatfrei gewaschen. Ausbeute 225 g.

Wir teilen die Analyse *als Beispiel* unserer Arbeits- und Berechnungsweise in ihren Einzelheiten mit:

[1]) Biochem. Handlex. 4, 182.

25 g des Präparats wurden mit der vierfachen Menge konzentrierter HCl vollkommen hydrolysiert; es wird sodann zehnfach mit Wasser verdünnt und die durch PWS fällbare Fraktion vollkommen niedergeschlagen. Nach Stehen über Nacht wurde der Niederschlag auf der Nutsche abgetrennt, mit PWS und H_2SO_4-haltigem Wasser sehr gut gewaschen (was wichtig ist!), sodann durch Verreiben mit Ätzbaryt in der Kälte zerlegt, das Filtrat durch H_2SO_4 von Ba unter Vermeidung eines größeren Überschusses befreit und schließlich auf 800 ccm aufgefüllt, derart, daß 32 ccm der Basenfraktion *einem* Gramm Hämoglobin entsprachen. Dieselbe wurde nunmehr in vier Fraktionen geteilt, von denen je zwei zu Parallelbestimmungen dienten:

a)	320 ccm	entsprechen	10 g	Hämoglobin
b)	320 „	„	10 g	„
c)	32 „	„	1 g	„
d)	32 „	„	1 g	„

Aus a) und b) wurde nunmehr bei schwach saurer Reaktion das Flavianat ausgefällt, das sich in schönen goldgelben Kristalldrusen ausschied. Nach eintägigem Stehen wurde auf Glasgeochtiegel (Schott, Jena) filtriert, mit 10% flaviansaurer Lösung, dann mit Alkohol und Äther gewaschen, nach Trocknung bei 100° zur Wägung gebracht.

a) 0,762
b) 0,750 } 0,756 g Argininflavianat, entsprechend ($x : 0{,}756 = 56 : 488$);

$x = 0{,}0867$ Molekulargewicht des Argininflavianats.

0,0867 g *Argininstickstoff*, entsprechend 320 ccm der Basenfraktion.

Nun wurde weiterhin in den beiden kleinen Fraktionen c) und d) der *Gesamtstickstoff der Basenfraktion* nach *Kjeldahl* ermittelt.

c) ergab 0,0342
d) „ 0,0342 } 0,0342 g Gesamtbasen-N für 32 ccm der Fraktion oder 0,3420 g N für 320 ccm der Basenfraktion.

In der Basenfraktion entfielen sonach *25,4%* des Gesamt-N auf Arginin

($y : 100 = 867 : 3420$; $y = 25{,}4$).

Es ging aber nun nicht etwa an, daraus einfach das Arginin zu berechnen. Das wäre nur dann möglich, wenn bei der Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags durch sorgfältiges Auswaschen des Bariumphosphorwoframats und wiederholtes Verreiben mit neuen Portionen Barytwassers alle Verluste vermieden worden wären, was keineswegs der Fall war.

Wir mußten daher erst durch einen weiteren Hydrolysen-Doppelversuch genau durch Kjeldahlbestimmung feststellen (nach *Osborne* und *Harris*, jedoch ohne gesonderte Abtrennung des NH_3-N), wieviel durch *Phosphorwolframsäure fällbaren Gesamt-N* 1 g Hämoglobin tatsächlich liefert. Es ergab sich so für 1 g Hämoglobin Gesamtbasen-N entsprechend

a) 40,3
b) 40,7 } 40,5 ccm n/10 N oder 0,0567 g N,

d. i. für 100 g Hämoglobin 5,67 g Gesamtbasen-N.

Wir wissen nun aber bereits, daß vom Gesamtbasen-N 25,4% auf Arginin entfallen, d. i. *1,44% Arginin-N*

($z : 5{,}67 = 25{,}4 : 100$, $z = 1{,}44$).

und endlich, da Arginin 32,18% Stickstoff enthält:

*Argining*ehalt = 4,38%.

Tabelle 1.

	Eiweißkörper	Arginin %	Gesamt-Basen-N einschließl. NH_3-N %	Arginin-N %	Zerlegte Phosphorwolframsäurefraktion: Gesamt-Basen-N g	Zerlegte Phosphorwolframsäurefraktion: Arginin-N g	Arginin-N in % des Basen-N	Literatur
1.	Hämoglobin (krist.)	4,38	5,67	1,44	0,342	0,0867	25,4	*Abderhalden* 5,2 % Globin 5,42 %
2.	Hämoglobin (käufl.)	4,38	5,31	1,44	0,346	0,108	31,3	
3.	Fibrin	6,92	5,18	2,22	0,380	0,167	43,9	Angabe in Oppenheimers Handbuch **1**, 696 *Brunner* 7,4 % *Sakaguchi* 7,3 %
4.	*Witte*-Pepton Basenfraktion . .	6,86, 7,10 6,00	4,44	1,93	0,154	0,0353	43,5	*Levene, van Slyke u. Behrend*: Deuteroalbumose, Heteroalbumose, Protalbumose — aus Wittepepton 5,5 bis 7,7 %
5.	Serumalbumin . .	6,10	0,95 + 4,86 = 5,81 [1]	1,96	0,238	0,0805	35,0	*Lock u. Thomas* 4,74 % 4,58 %
6.	Serumglobulin . .	6,06	1,40 + 3,96 = 5,36 [2]	1,95	0,255	9,093	36,5	*Lock u. Thomas* 4,51 % *Sakaguchi* 4,74 %
7.	Casein	5,20	1,61 + 3,49 = 5,00 [3]	1,68	0,274	0,0817	29,8	*Kossel u. Gross* 4,41 % (umgerechnet) *Sakaguchi* 4,06 %
8.	Ovalbumin	5,96	1,34 + 3,30 = 4,64 [4]	1,92	0,112	0,0464	41,4	*Sakaguchi* 6,07 %
9.	Ovoglobulin	4,12	2,57	1,28	0,146	0,0728	49,8	
10.	Legumin	11,40	5,70	3,65	0,133	0,085	64,1	*Osborne u. Weyl*, Erbse 11,7 % Wicke 11,1 %
11.	Glutin	9,0 [7]	4,00 [5]	2,90	Mittel aus 5 Analys.		72,5	*Kossel u. Kutscher* 9,4 % *Sakaguchi* 9,27 %
12.	Keratin	4,68	1,17 + 2,95 = 4,12 [6]	1,51	0,388	0,142	36,6	*Abderhalden u. Voitinovici*: (Hammelhorn) . . 2,70 %; (*Argyris*, Roßhaare) 4,45 %; *W. Keil* . . . (Schildpatt) . . . . 3,4 %
13.	Fibroin	1,52	1,50	0,49	0,0365	0,0112	30,7	*Fischer u. Skita* 1 %
14.	Sericin [8]	4,30	1,51	1,38			92,0	*Türck* (nach *Kossel u. Kutscher*) 4,56 %
15.	Nukleoproteid [9] aus Pankreas . .	10,00	7,08	3,22	0,0308	0,0140	45,5	

[1]) Nach *Th. Gümbel*, Hofmeisters Ber. **5**, 297, 1904.
[2]) Nach *W. Hausmann*, Hoppe-Seyler **27**, 103, 1899.
[3]) Nach *Osborne*, Journ. Amer. Chem. Soc. **25**, 323–53.
[4]) Nach *demselben*, ebendaselbst.
[5]) Der Wert 6,45 % von *Hausmann*, Hoppe-Seyler **27**, 103, 1899 ist sicherlich zu hoch. *Van Slyke*, Journ. of biol. Chem. **10**, 15, 1911 . . 4,4 %. *Dakin*, Ebendaselbst **44**, 499, 1920 . . . . . 3,9 %. *Knaggs*, Biochem. Journ. **17**, 488, 1923 . . . . . 3,5 %. Mittel . . 4,0 %.
[6]) Nach *Th. Gümbel*, Hofmeisters Ber. **5**, 297, 1904.
[7]) Mittel unserer Analysen 8,2 %, 8,3 %, 9,4 %, 9,7 %, 9,5 % } 9,0 %.
[8]) Diese Analyse wurde von *N. Alders* ausgeführt (diese Zeitschr. **183**, 46, 1927). *N. Alders* findet bei der Analyse des Sericins folgende Relation: 5 Mol. Arginin, 1 Mol. Lysin, 0 Mol. Histidin. Diese Relation würde 90,1 % Arginin-N des Basen-N erfordern.
[9]) Der mit Wasser und Sodalösung ausgekochte Organrückstand ergab: Arginin 6,01 %. Basen-N 4,18 %. Arginin-N in % des Basen-N 46,3 %.

Wir müssen nur noch eine Bemerkung hinsichtlich der Behandlung jenes Stickstoffs beifügen, des sogenannten „*Amidstickstoffs*", der in den Hydrolysaten als *Ammoniak* auftritt. Wir haben denselben nicht abgetrennt, er ist sonach sowohl in unseren Werten für Gesamtbasen-N enthalten, als auch in der aus dem zerlegten Phosphorwolframsäureniederschlag gewonnenen Fraktion[1]). Dort, wo wir die Werte für Gesamtbasen-N nicht selbst bestimmt, vielmehr der Literatur entnommen haben, mußten wir logischerweise die Summe von „Amid-N + Diamino-N" einsetzen.

Eine weitere *Hämoglobinanalyse*, ausgeführt mit einem *käuflichen* Präparat, ergab einen genau übereinstimmenden Wert von **4,38**%.

In der Literatur findet sich diesbezüglich eine Angabe von *Abderhalden*[2]), der aus 100 g kristallisiertem Oxyhämoglobin nach *Kossels* altem Verfahren **5,2**% Arginin als Nitrat erhalten hat. *E. Fischer* und *Abderhalden* erhielten aus Globin **5,42**%[3]).

B. Fibrin und Wittepepton.

Die Analyse eines Fibrinpräparats nach obigem Verfahren ergab **6,92**% Arginin. In der Literatur finden sich Angaben von *Brunner*[4]) mit **7,4**% und von *Sakaguchi* mit **7,3**%. Eine ältere Angabe von *Lock* und *Thomas*[5]) lautet niedriger: **5,52**%.

Für *Wittepepton*, das aus Fibrin durch Pepsinverdauung gewonnen wird, ergab die direkte Fällung des Hydrolysats ohne Umweg über das Phosphorwolframat in guter Übereinstimmung **6,86** und **7,10**%. In der Literatur finden sich für verschiedene Albumosen Angaben[6]), die zwischen **5,5** bis **7,7**% schwanken.

Wir analysierten ferner eine *Basenfraktion aus Wittepepton*, die in der Weise gewonnen worden war, daß 100 g Wittepepton mit Salzsäure hydrolysiert und daraus die PWS-Fraktion abgeschieden und mit Baryt zerlegt worden war. Es fanden sich dann aber nur **6**% Arginin.

C. Serumalbumin und Serumglobulin.

Die Analyse von Präparaten, die durch Ammonsulfat fraktioniert, koaguliert und sulfatfrei gewaschen worden waren, ergab hier nach dem PWS-Verfahren auffallend hohe Werte, **6,10** und **6,06**%. Analysenwerte von *Lock* und *Thomas* und *Sakaguchi* schwanken zwischen **4,5** bis **4,7**%.

---

[1]) Die kleinen, unvermeidlichen NH_3-Verluste durch spontenes Abdunsten beim Verreiben des PWS-Niederschlags mit Barytwasser glaubten wir vernachlässigen zu dürfen.

[2]) *E. Abderhalden*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 412, 1902/03.

[3]) *E. Fischer* und *Abderhalden*, ebendaselbst **36**, 268, 1902.

[4]) Angabe in Oppenheimers Handb. d. Biochem. **1**, 696.

[5]) *K. Lock* und *K. Thomas*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **87**, 84, 1913.

[6]) *Levene, van Slyke* und *Birchard*, Journ. of biol. Chem. **8**, 269; **10**, 57, 1911.

Wir halten unsere Werte einer weiteren Untersuchung für bedürftig, da wir den der Berechnung zugrundeliegenden Basen-N-Wert aus älteren Analysen (*Hausmann*, *Gümbel*) übernommen haben (Summe von Amid-N und Diamino-N). Angesichts des relativ hohen NH_3-N würde es sich hier künftig empfehlen, den NH_3-N aus der PWS-Fraktion vor der Flaviansäurefällung mit Magnesia zu beseitigen, was aber wiederum vorher die Beseitigung von Mg erfordern dürfte.

D. Hammarstensches Casein.

Auch hier ergab der Umweg über die PWS-Fällung etwas höhere Werte als die direkte Fällung: **5,2** % gegenüber *Kossel* und *Gross* **4,41** % (umgerechnet). Auch hier könnte der hohe Gehalt an „Säure-Amid-N" (nach *Osborne* und *Harris* 1,61 %) vielleicht einen zu hohen Argininwert vorgetäuscht haben.

E. Ovalbumin und Ovoglobulin.

Die Präparate wurden durch fraktionierte Ammonsulfatfällung gewonnen.

Für *Ovalbumin* fanden wir **5,96** % Arginin. Einen ähnlichen Wert hat *Sakaguchi* mitgeteilt: 6,07 %. Im *Ovoglobulin* fanden sich **4,12** % Arginin.

F. Legumin (Merck).

Das Präparat, das als Beispiel eines pflanzlichen Eiweißkörpers nach dem PWS-Verfahren analysiert wurde, ergab einen hohen Argininwert von **11,40** %, in sehr guter Übereinstimmung mit den Analysen von *Osborne* und *Weyl*: Legumin aus Erbsen **11,7** %, aus Wicken **11,4** % Arginin. Auch andere pflanzliche Proteine sind bekanntlich durch einen hohen Arginingehalt ausgezeichnet. So fanden *Kossel* und *Gross* (umgerechnet, 24,9 % des Gesamt-N, dieser angenommen mit 18,7 %) in *Edestin* **13,7** %, *Schulze* und *Winterstein* in Eiweiß aus *Kiefernsamen* **10,9** % Arginin.

G. Keratin.

Die Analyse von Hornspänen ergab **4,68** % Arginin. Einen ähnlichen Wert hat *Argyris*[1]) in *Steudals* Laboratorium bei Analyse von *Roßhaaren* erhalten, während *Abderhalden* und *Voitinovici*[2]) im *Hammelhorn* nur 2,70 %, *Keil*[3]) im *Schildpatt* 3,4 % gefunden hatten.

H. Fibroin und Sericin.

Fibroin (gewonnen durch dreimaliges Auskochen von Rohseide mit heißem Wasser, je 2 Stunden) ergab **1,52** % Arginin. *E. Fischer*

[1]) *Argyris*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **54**, 86, 1907.

[2]) *Abderhalden* und *Voitinovici*, ebendaselbst **52**, 348, 1907.

[3]) *Keil* (Laboratorium von *Ackermann*), Ber. d. deutsch. chem. Ges. **59**, 2812, 1926.

und *Skita*[1]) hatten seinerzeit die Menge des Arginins aus der nach *Kossel* abgeschiedenen Silberverbindung ($C_6H_{14}N_4O_2 . HNO_3 . AgNO_3$) mit 1% berechnet. Vergleicht man diesen Wert mit dem Mittelwert der Tyrosinanalysen im Fibroin von *O. Fürth* und *A. Fischer*[2]) = 10,7%, so ergibt sich (Molekulargewicht des Tyrosins = 181, des Arginins = 174), daß im Fibroin auf je 1 Molekül Arginin 6 bis 7 Moleküle Tyrosin entfallen dürften.

Im *Sericin oder Seidenleim* dagegen haben die kürzlich veröffentlichten Analysen von *N. Alders*[3]) nach der PWS-Modifikation einen Argiringehalt von 4,30% ergeben gegenüber 6,0% Tyrosin. Hier entsprechen 7 Tyrosinmoleküle anscheinend 5 Argininmolekülen. Das Sericin ist also sehr viel argininreicher als das Fibroin. In guter Übereinstimmung damit hatte *Türck*[4]) nach dem Vorgange von *Kossel* und *Kutscher* 4,56% Arginin erhalten.

I. Nucleoproteid aus Pankreas

wurde nach *Salkowskis* Vorgange durch wiederholtes Auskochen von 1½ kg ganz frischer, fein gehackter Pankreasdrüse vom Rinde mit Wasser und Fällung des Filtrats mit Essigsäure erhalten — allerdings, wie gewöhnlich bei diesem Vorgang, in sehr schlechter Ausbeute (9½ g). Die Analyse ergab einen Argiringehalt von 10,0%, gegenüber einem Gehalt der ganzen Trockensubstanz des Rinderpankreas (s. unten) von 8,8%. Wird nach Auskochen mit Wasser das Auskochen der Drüse mit stark verdünnter Sodalösung fortgesetzt, so gehen große Mengen eines argininreichen Proteins in Lösung und es hinterbleibt schließlich ein noch immer sehr reichlicher Gewebsrückstand, der nur mehr 6,0% Arginin enthält. Die Relation $\frac{\text{Arginin-N}}{\text{Gesamtbasen-N}} = 46{,}3\%$ ist da aber noch dieselbe wie im Nucleoproteid (45,5%).

Wir haben schließlich versucht, aus den schönen goldgelben Niederschlägen von Argininflavianat, die wir bei obigen Analysen auf Glasfiltertiegeln gesammelt hatten, das *Arginin zu isolieren*. Dem Vorgang von *Pratt* folgend (l. c.), wurden 20 g davon in 200 ccm H_2SO_4 10%, in der Wärme gelöst. Die Lösung erfolgte ziemlich langsam und spärliche dunkelorangerote Körner blieben ungelöst zurück. Die Lösung wurde nunmehr zum Zwecke der Beseitigung der Flaviansäure dreimal mit normalem *Butylalkohol* ausgeschüttelt, wozu ¼ Liter davon erforderlich war. Doch blieb die Lösung noch immer gelb gefärbt. Es wurde nunmehr gesättigtes Barytwasser zugesetzt, bis eine Tüpfelprobe auf Phenolphthaleinpapier sich eben rötete, nach Einleiten von CO_2 abgesaugt und das gelbe Filtrat

[1]) *E. Fischer* und *E. Skita*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**, 223, 1902.
[2]) *O. Fürth* und *A. Fischer*, diese Zeitschr. **154**, 22, 1904.
[3]) *N. Alders*, ebendaselbst **183**, 46, 1927.
[4]) *Türck*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **111**, 70, 1920.

eingeengt. Der resultierende (im wesentlichen aus kohlensaurem Arginin bestehende) orangegelbe Sirup erwies sich nicht kristallisationsfähig. Derselbe wurde nunmehr in Wasser gelöst, die Lösung mit Salpetersäure sehr genau gegen empfindliches Lackmuspapier neutralisiert, ½ Stunde mit Tierkohle gekocht, wobei vollständige Entfärbung erfolgte, und zum Sirup gedampft; zunächst keine spontane Kristallisation. Nach Impfung mit einigen Kristallen von Argininnitrat erstarrte es sehr schnell und vollständig zu einer schneeweißen, undurchsichtigen Masse. Ausbeute an *Argininnitrat* 7,0 g, entsprechend 5,2 g Arginin; (die theoretische Ausbeute wäre 7,1 g Arginin gewesen).

IV. Argininingehalt einiger normaler und amyloidhaltiger Organe.

Bei der Argininbestimmung in Organen haben wir stets den Umweg über die PWS-Fällung eingeschlagen, da wir zu wiederholten Malen bei dem Versuch, die von Salzsäure durch Vakuumdestillation größtenteils befreiten und neutralisierten Hydrolysate direkt mit Flaviansäure zu fällen, entweder gar keine oder nur eine unvollständige Argininfällung erzielt hatten (so bei der Analyse von Hundemuskeln, Hundeleber und eingesalzener Heringsmilch). Nebenbei bemerkt, kann auch ein hoher *Kochsalzgehalt* der Hydrolysate das Auskristallisieren des Argininflavianats stören!

Unsere Resultate sind aus beifolgender Tabelle zu ersehen.

Tabelle II.

Organ Trockensubstanz	Arginin	Diamino-N	Arginin-N	Zerlegte Phosphorwolframsäurefraktion		Arginin-N des Diamino-N
				Gesamt-Basen-N (gefunden)	Arginin-N (gefunden)	
	%	%	%	g	g	%
Pankreas (Rind) . .	*8,79*	6,04	2,83	0,250	0,117	46,8
Muskel (Rind) . .	*5,65*	4,98	1,82	0,2537	0,0927	36,5
Lunge (Kalb) . . .	*5,25*	4,39	1,69	0,8882	0,0878	36,9
Mensch, normal Niere .	*6,48*	4,36	2,08	0,0597	0,0285	47,7
Mensch, normal Leber .	*7,35*	4,90	2,37	0,0622	0,030	48,3
Mensch, normal Milz . .	*7,14*	4,82	2,30	0,0801	0,0382	47,7
Mensch, amyloide Degeneration Niere .	*6,72*	4,37	2,17	0,0632	0,0314	49,7
Mensch, amyloide Degeneration Leber .	*8,07*	4,71	2,60	0,0795	0,0438	55,1
Mensch, amyloide Degeneration Milz . .	*7,49*	5,00	2,41	0,0746	0,0350	47,7

Die Größenordnung unserer Werte stimmt mit denjenigen von *Eckstein* überein, der im *Schilddrüseneiweiß* nach *Kossel* und *Gross* (umgerechnet) kürzlich etwa 8% Arginin gefunden hat[1]).

Nach einem ganz anderen Prinzip hat kürzlich *Th. Cohn*[2]) gearbeitet, indem er den Argininingehalt von *Hundemuskeln* normal und nach Ischiadicus-

[1]) *H. C. Eckstein*, Journ. of biol. Chem. **67**, 600, 1926.

[2]) *Theophile Cohn*, Thèse Strasbourg. Dégénerescence musculaire.

durchschneidung verglich. Das Arginin der Hydrolysate wurde durch Arginaseferment gespalten und der entstandene Harnstoff mit Urease bestimmt. Er fand in 100 g feuchten Muskeln etwa 0,4% Arginin-N. Es entspricht dies etwa 1,2% Arginin im feuchten und 6% im trockenen Muskel, was mit unserem Werte von **5,65**% bestens übereinstimmt.

Osborne und seine *Mitarbeiter*[1]) fanden im Muskel des Huhnes 6,50%, eines Fisches 6,34%, der Jakobsmuschel 7,38% Arginin. *Weiss*[2]) im Laboratorium *Kossels* im Muskeleiweiß des Lachses 5,67%.

Auffallend niedrig sind im Vergleich zu den unsrigen die Werte von *Wakeman*[3]), der nach *Kossel-Kutscher-Patten* in 100 g normaler, trockener *Hundeleber* nur 3,2 bis 3,6% Arginin gefunden hatte. Wir haben das Hydrolysat einer Hundeleber nach Beseitigung der abdestillierbaren Salzsäure heiß mit überschüssiger Flaviansäure gefällt, den dunkelgefärbten, aus Melaninen und Fettsäuren bestehenden Niederschlägen heiß abfiltriert. Das gelbe Filtrat gab erst nach mehrstündigem Stehen eine Kristallisation entsprechend *4,9*% Arginin. Die Abweichungen könnten vielleicht in Verschiedenheiten des Fettgehalts ihre Erklärung finden.

Amyloidhaltige Organe.

Um über die Frage ins klare zu kommen, ob die amyloide Entartung von Organen mit einer Veränderung ihres Arginingehalts vergesellschaftet sei, haben wir Versuche in folgender Art ausgeführt: Niere, Leber und Milz wurden im normalen Zustande und im Zustande hochgradiger amyloider Degeneration miteinander bei durchaus gleichartigem Vorgange verglichen. Das normale Material wurde uns vom gerichtlich-medizinischen Institut von Fällen gewaltsamen Todes normaler Individuen, das Amyloidmaterial vom pathologisch-anatomischen Institut im frischen Zustande beigestellt, wofür wir den Herren Prof. *Haberda*, *Meixner*, *Maresch* und *C. Sternberg* zu Danke verpflichtet sind. Das fein zerkleinerte Material wurde am Wasserbad getrocknet und fein gepulvert. Bei jedem Organe wurde, um Mittelwerte zu erzielen, das von drei Fällen herrührende Material gemischt. Die in der Tabelle angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus gut übereinstimmenden Doppelbestimmungen.

C. Neuberg[4]) hat seinerzeit einen Fall von Leberamyloid nach dem Verfahren von *Kossel* und *Kutscher* analysiert und in dem Präparat den auffallend hohen Wert von 13,9% Arginin gefunden. Es schien dies auf eine Zugehörigkeit des Amyloids zu den basischen Eiweißstoffen hinzudeuten.

---

[1]) *Osborne* mit *Heyl* und *Jones*, Amer. Journ. of Physiol. **22**, 433, 1908; **23**, 81, 1908; **24**, 161, 1909.

[2]) *F. Weiss*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, 107, 1907.

[3]) *A. J. Wakeman* (Laboratorium von *Kossel*), Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 339, 1905.

[4]) *C. Neuberg*, Verh. d. d. pathol. Ges. 1904, S. 19.

Auch *Jackson* und *Pearce*[1]) fanden den „Diamino-N" in amyloidentarteten Lebern merklich erhöht. Sodann hat *Mayeda*[2]) in *Kossels* Laboratorium in Milzamyloidprotein 7,7%, in Leberamyloidprotein 7,9% Arginin gefunden und weiter auch Verdauungsversuche mit Amyloidorganen angestellt und die Produkte fraktioniert. Er gelangte zu der Annahme, „daß der Hexonbasengehalt der die Amyloidsubstanz der Leber bildenden Proteinstoffe der gleiche ist wie in normalen Organen. Die Übereinstimmung ist eine sehr auffallende. Auch die Proteinstoffe der Amyloidmilz weichen nicht erheblich von diesen Zahlen ab. Jedenfalls ist kein Grund vorhanden, einen *histonartigen* oder *basenartigen Charakter* des Amyloidproteins anzunehmen".

Weiterhin hat *Eppinger* einen Amyloidtumor aus dem Leberparenchym bei 40° getrocknet und zerkleinert und analysiert; er enthielt 14,74% Gesamt-N, dieser enthielt 14,7% Arginin, 0% Histidin und 4,3% Lysin. *Eppinger* meint, die Substanz sei von ziemlich *basischem Charakter*. Die Umrechnung ergibt aber 6,7% Arginin auf die Trockensubstanz des Tumorwertes und steht unserem Normalwert für menschliche Leber (7,35%) sehr nahe.

Der Vergleich unserer Werte für normale und amyloide Organe (s. die Tabelle) ergibt *geringe Differenzen zugunsten der Amyloidorgane* in bezug auf den Argininingehalt, so daß wir denselben keinen Wert beilegen können. Wir glauben daher, daß, wenn in manchen Fällen eine Anhäufung von Arginin im amyloid degenerierten Lebergewebe gefunden worden ist, dieselbe nicht als für den Amyloidprozeß charakteristisch anzusehen, sondern auf andere Ursachen zurückzuführen ist. Es sei aber darauf hingewiesen, das nach *Jackson* und *Pearce* (l. c.) offenbar regressive Metamorphosen verschiedener Art mit einer Anreicherung an Arginin und Histidin einhergehen können.

Versuche zur kolorimetrischen Argininschätzung.

Verfahren von Sakaguchi.

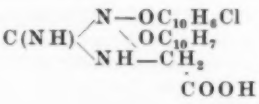
Kürzlich hat *Sakaguchi*[3]) interessante Mitteilungen über eine neue *Farbenreaktion* der Proteine, die durch ihren Argininingehalt bedingt ist, gemacht, ebenso wie auch über Versuche mit Hilfe dieser Farbenreaktion den *Argininingehalt* von Proteinen zu ermitteln, berichtet. Es handelt sich um eine intensive Rotfärbung, die eintritt, wenn man eine Eiweiß- oder Argininlösung mit Natronlauge alkalisch macht und (unter Einhaltung bestimmter Vorschriften) ein wenig alkalischer *Naphthollösung*, sowie einige Tropfen *Natriumhypochlorit* hinzufügt. Für die Eiweißkolorimetrie empfiehlt der Autor etwa folgendes Schema: 5 ccm 1% Eiweißlösung + 2 ccm 15% NaOH + 5 ccm 0,15% Naphthollösung + 0,3 n NaOCl, variierend zwischen 1,0 bis 2,8 ccm, auszutasten. Die Probe wird in kaltes Wasser (2,4°) eingelegt. Nach 40 Minuten und nachdem das Maximum der Färbung

[1]) *H. C. Jackson* und *R. M. Pearce* (Albany), Journ. of exper. Med. 9, 520, 1907, vgl. diesbezüglich *Mayeda*, l. c., Fußnote S. 482.

[2]) *M. Mayeda*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 468, 1908/09.

[3]) *S. Sakaguchi*, Tokyo Journ. of Biochem. 5, 95, 133, 1925.

eingetreten ist, wird auf 250 ccm verdünnt und kolorimetriert, wobei ein Eiweißkörper von bekanntem Arginingehalt, etwa das Edestin, nach analoger Behandlung als Standard dient. Es handelt sich um eine Reaktion des *substituierten Guanidinkomplexes* im Arginin. So soll die Guanidinessigsäure angeblich den Farbstoff



liefern[1]).

Wir haben uns in zahlreichen zeitraubenden Versuchen mit reinen Argininlösungen und Eiweißlösungen bemüht, festzustellen, inwieweit die Reaktion strengeren Anforderungen der Kolorimetrie entspricht, insoweit und unter welchen Bedingungen die gebildete Farbstoffmenge der Menge des vorhandenen freien oder gebundenen Arginins wirklich proportional sei. Wir haben alle Variabeln, Argininmenge, Alkalikonzentration, Naphtholmenge und Natriumhypochlorit mannigfach variiert, wir haben das Alkali auch ganz weggelassen, die alkoholische Naphthollösung durch eine alkalische ersetzt, wir haben versucht, den Hypochloritüberschuß durch Thiosulfat zu beseitigen; wir haben das Naphthol durch Lösungen von 1, 4- und 1, 5-Naphtholsulfosäure ersetzt und dergleichen mehr. Es wäre zwecklos, die Versuche eingehend wiederzugeben. Wir haben insbesondere die Nebenfarbe, welche die Reagenzien an und für sich produzieren, störend empfunden, vor allem aber die Labilität des Produkts, das durch einen Hypochloritüberschuß zerstört wird, und die Störungen, welche durch die Reaktion des Hypochlorits mit anderen Eiweißbestandteilen bedingt sind, festgestellt. Es handelt sich hier um einen Prozeß mit allzuvielen undefinierten Variabeln. Vor allem erscheint uns das Austasten der optimalen Hypochloritmenge schwierig. Dort, wo man den *Arginingehalt eines Proteins annähernd bereits kennt*, also zur Ergänzung eines anderen Bestimmungsverfahrens, kann das Verfahren bei richtiger Anwendung sicherlich richtige Werte liefern; wir möchten ihm also keineswegs seinen Wert absprechen. Aber dort, wo man einem Protein von völlig unbekanntem Arginingehalt gegenübersteht, ist es uns zum mindesten nicht gelungen, es so anzuwenden, daß wir unserer Resultate einigermaßen sicher gewesen wären. Vielleicht werden andere mehr Glück haben! Eher könnten wir uns vorstellen, daß eine annähernde, schnelle Schätzung des Arginingehalts eines Proteins derart möglich wäre, daß man die Reaktion immer nach einem bestimmten Schema ausführt und die Probe so lange verdünnt, bis Probe und die sehr stark verdünnte Standardlösung übereinstimmen. Doch fehlen uns diesbezüglich die nötigen Erfahrungen.

Diacetylreaktion.

Schon vor längerer Zeit hatte *Walpole*[2]) eine Methode der direkten Bestimmung von *Kreatin* im Harn mit Hilfe einer Farbenreaktion des

[1]) Demgegenüber hat kürzlich *Poller* in *Ackermanns* Institut festgestellt (Klin. Wochenschr. **6**, 237, 1927), daß die beiden Naphtholgruppen auf die beiden Aminogruppen des Guanidins verteilt sind. Die Reaktion tritt nur dann ein, wenn an den beiden Aminogruppen noch mindestens je ein H frei ist.

[2]) *G. St. Walpole* (Wellcome Research. Labor.), Journ. of Physiol. **41**, 301, 1911.

Diacetyls $CH_3 . CO . CO . CH_3$ angegeben. Dieselbe ist dann von *A. Harden* und *D. Norris*[1]) zum Nachweis von *Arginin* in Proteinen empfohlen worden. Diese Reaktion wird z. B. mit einer Argininlösung in der Weise angestellt, daß 1 ccm einer 0,25% Argininlösung mit 0,5 ccm n KOH gemischt, mit Wasser auf 5 ccm verdünnt und mit 0,05 ccm einer frisch bereiteten Diacetyllösung versetzt wird. Man erhält so eine schöne violette Reaktion. Außer Kreatin, Arginin und argininhaltigen Proteinen geben auch Substanzen wie das Agmatin und die Guanidinessigsäure die Reaktion, nicht aber das Kreatinin und das Methylguanidin[2]).

Wir haben auch mit dieser Reaktion zahlreiche Versuche ausgeführt, um sie zu kolorimetrischen Zwecken zu verwerten, ohne zum Ziele zu gelangen. Ein Vorteil dieser Reaktion gegenüber der von *Sakaguchi* ist immerhin der Umstand, daß die Zahl der Variabeln nicht so groß ist. Dennoch fanden wir auch diese Reaktion für kolorimetrische Versuche wenig geeignet. Das Reagens ist *sehr labil* und muß oft neu bereitet werden[3]). Bei alkalischer Reaktion macht sich eine sehr störende braune *Nebenfarbe* unangenehm bemerkbar, welche die eigentliche Reaktion überlagert. Säuert man mit Essigsäure an, so schwächt sich zwar die Nebenfarbe stark ab und die Hauptfarbe erscheint schön goldgelb, ist aber leider sehr vergänglich. Dieser Umstand verbietet Serienversuche, die unerläßlich wären, um die jeweilig erforderliche optimale Menge an Diacetylreagens auszutasten, von dem ein relativer Überschuß die Farbe verblassen macht.

Zusammenfassung.

1. Bei dem Versuch, das von *Kossel* und *Gross* für die Argininbestimmung in reinen Proteinen ausgearbeitete Flaviansäureverfahren, das auf der Fällung der Base als schwer lösliches, schön kristallisierendes Argininflavianat beruht, auf die Argininbestimmung in *Organen* zu übertragen, ergaben sich Schwierigkeiten, insofern manche Organhydrolysate Substanzen enthalten, welche das Ausfallen der Verbindung hindern können. Wir haben dieselben durch eine Modifikation des Verfahrens umgangen. Dieselbe beruht darauf, daß man in dem Hydrolysat einerseits den durch Phosphorwolframsäure fällbaren *basischen N* bestimmt, andererseits aber in der durch Zerlegung des PWS-Niederschlags gewonnenen Basenfraktion durch Flaviansäurefällung feststellt, *ein wie großer Anteil des Basen-N auf Arginin-N* entfällt. Durch entsprechende Umrechnung ergibt sich dann der Argininigehalt des Organs.

---

[1]) *A. Harden* und *D. Norris*, Journ. of Physiol. **42**, 331, 1911.

[2]) Vgl. *H. Steudel* in Abderhaldens Arbeitsmethod., Teil 1, Abt. 7, S. 211.

[3]) Wir gingen dabei derart vor, daß wir je 1 g Diacetyldioxim (*Kahlbaum*) mit 100 ccm Wasser und 20 ccm konzentrierter H_2SO_4 destillierten. Bei 100° traten gelbgrünliche Dämpfe im Kühler auf und eine gelbe, intensiv riechende Flüssigkeit geht über. Nachdem etwa 30 ccm Wasser übergegangen sind, scheint die Destillation beendigt zu sein. Wir setzen sie aber noch fort, bis im ganzen genau 50 ccm übergegangen waren, und benutzten das so gewonnene Produkt als Reagens.

Wir haben diese Modifikation, bei der sich das Flavianat immer sehr rein und vollständig in Form goldgelber Kristalldrusen abscheidet, auch vielfach bei der Analyse reiner Proteine verwertet.

2. Es wurde der *Arginingehalt einer Anzahl von Proteinen* ermittelt. Wir fanden so in der Gelatine 9,0%, im Hämoglobin 4,4%, im Fibrin und Wittepepton 7,0%, im Serumalbumin und -globulin 6,1%, im Casein 5,2%, im Ovalbumin 6,0%, im Ovoglobulin 4,1%, im Legumin 11,4%, im Hornkeratin 4,7%, im Fibroin 1,5%, im Sericin 4,3%, im Nucleoproteid aus Pankreas 10,0%.

3. Die Analyse einiger menschlicher und tierischer *Organe* ergab Arginin werte, die für menschliche Niere, Leber und Milz zwischen 6,5 bis 8,1% lagen (s. Tabelle II).

4. Beim Vergleich des Arginingehalts *normaler* und *amyloid-entarteter* Organe ergab sich kein wesentlicher Unterschied.

5. Die von *Sakaguchi* empfohlene *kolorimetrische* Methode, die auf einer bei alkalischer Reaktion mit Naphthol und Natriumhypochlorit auftretenden Rotfärbung beruht, kann zur Unterstützung anderer Bestimmungsmethoden dienen. Dort aber, wo der Arginingehalt eines Proteins auch nicht annähernd bekannt ist, halten wir das Verfahren für wenig verläßlich. Die Farbenreaktion des Arginins mit *Diacetyl* fanden wir nicht geeignet, um die Grundlage für ein Bestimmungsverfahren zu liefern.

Die Verteilung des Sauerstoffs auf einzelne Organe nach Versuchen an angiostomierten Hunden.

Von

E. S. London und **L. M. Rabinkowa.**

(Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie am Institut für experimentelle Medizin zu Leningrad.)

(Eingegangen am 31. März 1927.)

A. Loewy hat als erster die Gase des Blutes untersucht, das von verschiedenen inneren Organen bei angiostomierten Hunden[1]) abfließt. Die Resultate seiner Analysen sind in einer kollektiven Schrift in Pflügers Archiv veröffentlicht worden[2]). Die Analysen von *A. Loewy* hatten die spezielle Aufgabe, die in dem Gasbestande des Blutes durch das Höhenklima hervorgerufenen Veränderungen zu verfolgen.

Veranlaßt durch diese Forschungen, deren dankbare Zeugen wir in Davos waren, beschlossen wir, die Frage nach der Teilnahme der verschiedenen Organe am Gaswechsel auf eine breite experimentelle Basis zu stellen, indem wir uns nebenbei derjenigen Versuche bedienten, die in unserem Laboratorium an angiostomierten Tieren für die verschiedensten Zwecke angestellt werden. Wir beabsichtigen, den Gaswechsel der einzelnen inneren Organe unter allen möglichen physiologischen und pathologischen Bedingungen zu erforschen.

Die Aufgabe, die wir uns zunächst gestellt haben, besteht darin, aufzuklären, ob aus dem arteriellen Blute eine gleiche Portion Sauerstoff zur Verfügung verschiedener innerer Organe gelangt, oder aber ob irgend ein besonderes, gewissermaßen ein Rationssystem besteht, nach welchem diese Verteilung erfolgt, und außerdem, ob sich die Sauerstoffverteilung in Abhängigkeit vom nüchternen oder gesättigten

---

[1]) *E. S. London*, Die erweiterte angiostomische Methodik. Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Ergänzungsband, Abt. V, Teil 4, S. 1921, 1927.

[2]) *Emil Abderhalden, Nina Kotschneff, E. S. London, A. Loewy, Lubow Rabinkowa, Georg Roske, Ernst Rossner* und *Ernst Wertheimer*, Wirkungen des Höhenklimas auf den tierischen Organismus. Pflügers Arch. **216**, 362, 1927.

Zustande des Organismus ändert. Unter gewissermaßen künstlichen Bedingungen sind diese Fragen schon mehrfach studiert worden[1]).

Durch das Gesagte wird die Anordnung der Versuche bestimmt: das Blut wurde gleichzeitig aus dem zum gegebenen Organ hinfließenden

Nr.	Datum 1927	Nahrungssubstanzenzufuhr	Zeit der Blutentnahme nach der Zufuhr d. Nahrungssubstanzen	Differenz des Sauerstoffgehaltes (in %) zwischen den verglichenen Blutportionen: vor	während	nach der Substanzenzufuhr
		I. Femoralarterie—Pfortader.				
1	27. II.	2 ccm einer 5% Peptonlösung im Darm	20′	2,9	—	3,1
2	23. III.	600 g Fleisch	3h	3,9	—	4,9
3	25. III.	Fleisch ad libitum	2h 30′	3,9	—	5,3
4	25. III.	600 g Fleisch	3h	3,4	—	5,2
		II. a) Femoralarterie—Pfortader. **b) Pfortader—Lebervene.**				
5	18. III.	600 g Fleisch	2h	a) 3,3	—	3,3
				b) 3,9	—	—
6	27. III.	600 g Fleisch	3h	a) 1,5	—	7,2
		600 ccm Milch		b) 6,9	—	5,9
		9 Eidotter	6h 30′	a) 1,5	—	3,9
				b) 6,9	—	4,2
		III. Lebervene—Lebervene.				
7	27. II.	50 ccm einer 5% Glykokollösung in die Pfortader eingeleitet	Dauer der Einleitung 3 bis 4 Minuten	—	5,8	—
8	27. II.	Dasselbe		—	2,1	—
9	18. III.	200 ccm einer 2,5% d, l-Leucinlösung		—	3,5	—
10	27. III.	50 ccm einer 5,2% d, l-Valinlösung		—	2,9	—
		IV. Femoralarterie—Nierenvene.				
11	23. III.	15 g Rectamin und 10 g Glucose in 200 ccm Wasser gelöst in Darm injiziert	30′	5,2	—	8,0 (linke Nierenvene)
12	27. III.	600 ccm Milch, 600 g Fleisch und 9 Eidotter	3h	2,7	—	6,1 (rechte Nierenvene)
		V. Rechte Nierenvene—linke Nierenvene.				
11	23. III.	Siehe oben Nr. 11	30′	2,0	—	4,9
12	27. III.	Siehe oben Nr. 12	3h	1,5	—	1,8
		VI. Femoralarterie—V. pancreatico-duodenalis.				
13	30. IV.	Gemischte Speise	2h 30′	2,8	—	4,0
			6 30		—	4,6
		VII. Femoralarterie—Milzvene.				
14	13. II.	Gemischte Speise	5h	3,4	—	4,4
15	3. IV.	„ „	5	3,1	—	5,0

[1]) *Joseph Barcroft*, Zur Lehre vom Blutgaswechsel in den verschiedenen Organen. Ergebn. d. Physiol. **7**, 699, 1908.

Blute entnommen — aus dem arteriellen Blute für alle Organe mit Ausnahme der Leber, für welche das Blut aus der Pfortader verwandt wurde — und aus dem vom Organ abfließenden Blute. Sollte die Veränderung der Sauerstoffabgabe des arteriellen Blutes unter dem Einfluß irgend eines äußeren Faktors verfolgt werden, so verglichen wir eine vorher entnommene Blutportion mit einer Blutmenge, die nach einer solchen Anwendung entnommen wurde. Die zu vergleichenden Blutproben wurden in *Barcroft*sche Differentialmanometer gebracht und der Unterschied der Sättigung mit Sauerstoff bestimmt, der in Volumprozenten ausgedrückt wird. Diese Zahl charakterisiert die Verarmung an Sauerstoff des durch das Organ hindurchgeflossenen Blutes.

Es sind elf Hunde untersucht worden. Drei von denselben hatten eine Pfortaderkanüle, drei andere hatten außer der Pfortaderkanüle noch eine Lebervenenkanüle, bei einem war eine Kanüle auf der V. pancreatico-duodenalis, bei zwei Hunden je eine Kanüle auf beiden Nierenvenen und endlich bei zwei Hunden auf der Milzvene.

Alle auf diese Weise gewonnenen Zahlen sind in beifolgender Tabelle zusammengestellt, aus welcher auch alle Einzelheiten der Versuche ersichtlich sind.

Aus den gewonnenen Daten lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Das Pfortaderblut sowohl als auch das Nierenvenenblut, das Milzvenenblut und das Blut aus der V. pancreatico-duodenalis ist während der Verdauung ärmer an Stickstoff als im nüchternen Zustande.

2. Durchleitung von Aminosäuren durch die Leber verursacht eine Verarmung des dieselbe durchströmenden Blutes an Sauerstoff.

3. Die rechte Nierenvene enthält nicht dieselbe Menge Sauerstoff wie die linke.

Eine Mikroharnstoffbestimmung im Harn ohne Urease.

Von

Walther Laubender.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 9. April 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Mangel an Sojabohnenmehl und Schwierigkeiten in der Beschaffung des Präparats in der Kriegs- und Nachkriegszeit, sowie spezielle Bedürfnisse, auf die weiter unten eingegangen wird, haben uns veranlaßt, auf den älteren chemischen Spaltungsmethoden fußend, eine einfache Mikromethode für die Bestimmung des Harnstoffs im Harn auszuarbeiten, die gegebenenfalls die Ureasemethode zu ersetzen vermag.

Es waren bekanntlich im wesentlichen zwei Wege, die die früheren chemischen Methoden eingeschlagen hatten, um zu einer möglichst exakten Bestimmung des Harnstoff-Stickstoffs im Harn zu gelangen: der eine[1]) bestand darin, den gesamten Nichtharnstoff-Stickstoff durch Fällung zu entfernen, worauf die Aufschließung des Harnstoffs mit beliebig eingreifender Methode — beispielsweise durch Kjeldahlisierung — erfolgen konnte. Dieser Weg hat in der Kritik keine sehr günstige Beurteilung erfahren[2]), weil es nicht gelänge, die quantitative Scheidung zwischen Harnstoff- und Nichtharnstoff-Stickstoff, durch welches Fällungsmittel auch immer, in exakter Weise zu erreichen. Der andere Weg bestand darin, daß man ohne vorherige Trennung die Bedingungen ausfindig zu machen suchte, unter denen *nur* die Spaltung des Harnstoffs erfolgte, während die übrigen Stickstoffverbindungen im wesentlichen intakt blieben. Das Ergebnis dieser Bemühungen lautete dahin, daß bei einer Temperatur von 150 bis 160° C und saurer Reaktion in verhältnismäßig kurzer Zeit eine vollständige Spaltung des Harnstoffs

[1]) *Pflüger* und *Bleibtreu*, Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. **38**, 575; **44**, 78; *Mörner* und *Sjöqvist*, Skand. Arch. f. Phys. **2**, 438, 1891.

[2]) *Salaskin* und *Zaleski*, Zeitschr. f. phys. Chem. **28**, 73, 1897; *Camerer* und *Söldner*, Zeitschr. f. Biol. **38**, 227, 1899.

zu erzielen sei, ohne daß die übrigen Stickstoffverbindungen Not litten. Die exakteste auf dieser Erkenntnis sich aufbauende Methode besteht in der Erhitzung des zu analysierenden Harns im zugeschmolzenen Rohr oder im Autoklaven bei saurer Reaktion auf 150° C für 1 bis 2 Stunden[1]). Der Aufwand an Apparatur bei dieser Methode aber hat ihrer allgemeinen Ausbreitung im Wege gestanden, und man hat sich bemüht, die oben geschilderten Bedingungen auf einfachere Weise zu erreichen. Von den in dieser Richtung unternommenen Versuchen kann wohl *Folins* Magnesiumchloridmethode[2]) als diejenige gelten, die das Problem in einfachster Weise gelöst hat.

Wie sich im folgenden zeigt, läßt sich diese Methode auch in den Dienst der Mikroanalyse des Harnstoffs im Harn stellen und gibt speziell bei pharmakologisch-toxikologischen Untersuchungen befriedigende Resultate.

I. Die zur quantitativen Zersetzung des Harnstoffs geeigneten Bedingungen.

Folins[2]) Methode der Harnstoffspaltung mittels Magnesiumchlorid benutzt die Eigenschaft dieses Salzes, in seinen 6 Molekülen Kristallwasser bei 160 bis 165° C zu sieden, um die für die Zersetzung des Harnstoffs innerhalb kurzer Zeit notwendige Temperatur auf bequeme Weise festzuhalten. Nun bewirkt der Zusatz des Harns und der Salzsäure notwendigerweise zunächst eine Siedepunktsdepression des Gemisches. Diese wird dadurch behoben, daß durch längeres Erhitzen das Gemisch Wasser verliert. Als Indikator für die Erreichung des kritischen Punktes gab *Folin* ursprünglich[2]) ein „zischendes Geräusch der rückfallenden Tropfen" und später[3]) einen Temperaturindikator in Gestalt von Jod-Chlor-Quecksilber im zugeschmolzenen Glasröhrchen an. Es ist begreiflich, daß dieses Vorgehen nicht die Konstanz der Bedingungen sichert, die für die Mikroanalyse gefordert werden muß.

Wir haben deshalb zunächst untersucht, in welcher Weise der Siedepunkt des in seinem Kristallwasser siedenden Magnesiumchlorids vom Wasserzusatz abhängt.

Die Versuche wurden so angestellt, daß wir in derselben Apparatur, die wir später für die Analysen verwandten, durch einen seitlich angeblasenen Tubus ein Thermometer einführten und in Einzelversuchen die Abhängigkeit des Siedepunkts des Magnesiumchlorids vom Wasserzusatz feststellten.

---

[1]) *Henriques* und *Gammeltoft*, Skand. Arch. f. Phys. **25**, 153, 1911.

[2]) *O. Folin*, Zeitschr. f. phys. Chem. **32**, 504, 1901.

[3]) *Abderhalden*, Handb. d. biochem. Arbeitsmethod. **5** (1), 286; *O. Folin*, Journ. of biol. Chem. **11**, 507, 1912.

Aus der Temperaturkurve (Abb. 1) ergibt sich, daß gerade in der in Betracht kommenden Temperaturzone der Verlauf der Kurve am steilsten ist, d. h. daß gerade hier der geringste Wasserzusatz einen starken Abfall der Temperatur bewirkt: 0,1 ccm Wasser pro 5,0 g Magnesiumchlorid läßt die Temperatur im Anfangsbereich um etwa 3,4° C sinken, während beispielsweise bei 142° C dieselbe Wassermenge nur mehr eine Depression von 1,2° C bewirkt. Die gemessenen Temperaturen wurden in dem von uns gewählten, mit Rückflußkühler versehenen System nach etwa 10 bis 15 Minuten erreicht und hielten sich weitere 15 bis 20 Minuten fast konstant.

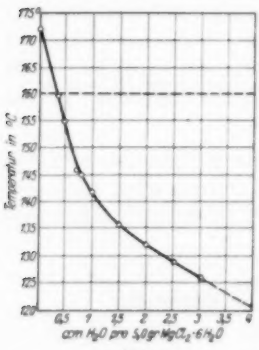


Abb. 1.

Diese Versuche wiesen den Weg zur Erreichung absolut gleichmäßiger Zersetzungsbedingungen. Folgende Umstände waren zu berücksichtigen:

1. Konstante Zusammensetzung des zur Verwendung kommenden Magnesiumchlorids.

Da das kristallwasserhaltige Magnesiumchlorid ($MgCl_2 \cdot 6\,H_2O$) eine außerordentlich hygroskopische Substanz ist, muß das Präparat dauernd im Exsikkator in einer flachen Schale über Phosphorpentoxyd aufbewahrt werden. Es verliert dabei innerhalb weniger Tage nicht wesentlich an Kristallwasser.

2. Beschränkung der zuzusetzenden Flüssigkeitsmenge auf 0,3 ccm, entsprechend einer Siedepunktsdepression von etwa 10° C.

Bei Benutzung dieses Präparats wurde mit ziemlicher Gleichmäßigkeit der Siedepunkt von 172° C in unserem System erreicht, so daß bei einem Flüssigkeitszusatz von 0,3 ccm mit großer Regelmäßigkeit eine Temperatur von 160 bis 165° C sich einstellte.

II. Die Ausarbeitung der Methode.

Die Mikroanalyse des Harnstoffs mit Hilfe des Magnesiumchlorids besteht aus drei Etappen, die im gleichen 100-ccm-Kjeldahlkolben vorgenommen werden:

1. Die Verdampfung der zur Analyse kommenden Flüssigkeit zur Trockne.

Wir benutzten dazu Destillation im siedenden Wasserbad bei 12 bis 20 mm Druck (s. Abb. 2a). Die Zuhilfenahme des Vakuums ist im Interesse der Zeitersparnis und der schonenden Behandlung des Materials notwendig. Wir nahmen fast stets eine Flüssigkeitsmenge von 2 ccm. Der Grund hierfür liegt darin, daß man die Mikrokjeldahlbestimmung gewöhnlich mit derselben Menge und Verdünnung ausführt, so daß bei Bestimmung des Harnstoffquotienten, auf die es ja zumeist ankommt, sämtliche Verdünnungs-, Pipettierungsfehler usw. identisch sind. Zusatz von 1 Tropfen 38% HCl genügt, um mit Sicherheit einen

Ammoniakverlust hintanzuhalten. Einige Tropfen Alkohol (95%) verhindern den Siedepunktsverzug.

2. Die Aufschließung des Harnstoffs.

Sie geschieht mittels 0,3 ccm 38% HCl und 5 g Magnesiumchlorid am Rückflußkühler (s. Abb. 2b), entsprechend den im vorstehenden Abschnitt entwickelten Prinzipien. Der Zusatz des Harns als Trockensubstanz ändert den Siedepunkt des Gemisches nicht merklich. Das Magnesiumchlorid muß, wie schon erwähnt, mindestens 1 bis 2 Tage lang vorher im Exsikkator über Phosphorpentoxyd eventuell unter kurzem Evakuieren aufbewahrt worden sein, um es von angezogenem Wasser zu befreien. Bemerkenswerte Verluste an Kristallwasser wurden

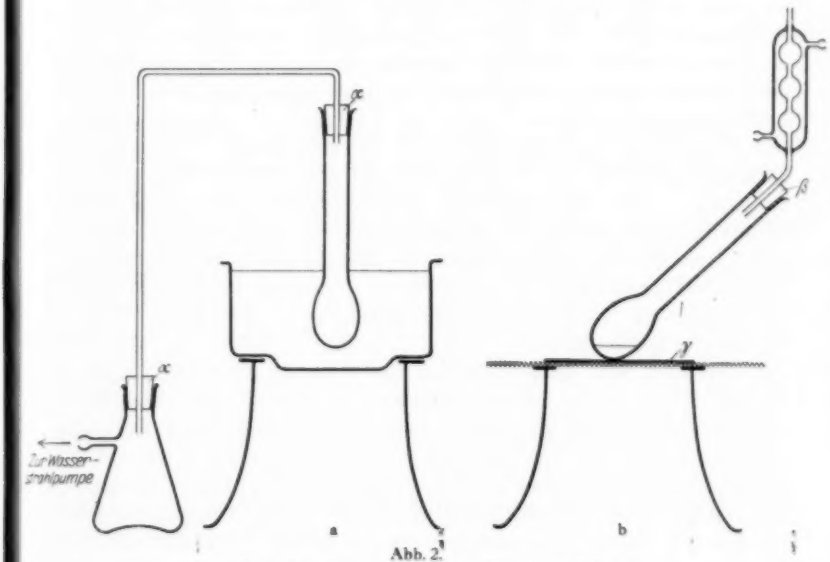


Abb. 2.

α = Gummistopfen. β = Korkstopfen. γ = Asbest.

dabei nie beobachtet. Das Erhitzen erfolgt über einem Asbestdrahtnetz mit kleiner Flamme; die Flammenspitze soll eben das Asbestdrahtnetz berühren. Vom Beginn des Erhitzens ab gerechnet, genügt ein Zeitraum von 30 Minuten. Ein zu starkes Erhitzen bedingt teilweise Ausscheidung von fester Substanz aus der Schmelze und Gefahr der Zersetzung der Nichtharnstoffverbindungen. Am Schluß wird der Kühler entfernt und zu der noch heißen Schmelze 20 ccm destillierten Wassers gefügt.

3. Die Destillation und Titration des gebildeten Ammoniaks.

Das Überjagen geschieht genau wie beim Mikrokjeldahlverfahren mittels eines Luftstroms unter Erhitzen in der gleichen Apparatur[1]). Zur Alkalisierung verwandten wir 10 ccm einer 40% KOH. Die Alkalimenge ist so gewählt, daß nach Absättigung des gesamten Chlors aus der Salzsäure und dem Magnesiumchlorid noch ein Überschuß an KOH vorhanden ist. Wenn man nämlich nur so viel Alkali zufügt, daß noch Magnesiumchlorid in der Lösung anwesend ist, so verläuft die Destillation außerordentlich träge. Als Grund hierfür ist längst erkannt worden[2]), daß sich ein Gleichgewicht zwischen dem Magnesiumchlorid und dem frei werdenden Ammoniak einstellt:

$$MgCl_2 + 2\,NH_4OH \rightleftarrows Mg(OH)_2 + 2\,NH_4Cl,$$

das erst in sehr langer Zeit zu einem quantitativen Übergang des Ammoniaks führt. Daß durch den geringen Überschuß an KOH keine Zersetzung anderer N-haltiger Substanzen bei der Übertreibung des Ammoniaks eintritt, wurde durch Versuche ausgeschlossen. Bei einer Luftstromgeschwindigkeit von 1 bis 1,2 Liter pro Minute erfordert das Übertreiben des Ammoniaks 15 bis 20 Minuten. Vorlage und Titration geschieht mit n/50 H_2SO_4 und n/50 NaOH, Methylrot als Indikator. Der Ammoniakwert der Reagenzien muß in mehreren Blindversuchen geprüft — Magnesiumchlorid enthält immer Spuren von Ammoniak — und vom gefundenen Wert in Abzug gebracht werden. Wir haben gewöhnlich 0,2 bis 0,3 ccm — selten 0,4 ccm n/50 H_2SO_4 bei Anwendung des *Merck*schen Präparats (puriss. cryst. D. Ap. V. 4) — verbraucht gefunden.

Der Zeit- und Arbeitsaufwand der Methode entspricht ungefähr dem für die Ureasemethode erforderlichen. Aufschließung des Harnstoffs und Destillation des gebildeten Ammoniaks haben beide Methoden gemeinsam; die Zeit und Mühe für das Vortrocknen des Harns bei der Magnesiumchloridmethode wird — wenigstens zum Teil — durch die kürzere Destillationsdauer ausgeglichen. Als gewissen Vorzug möchten wir bei der Magnesiumchloridmethode die leichte Zugänglichkeit und Billigkeit der Reagenzien hervorheben. Selbstverständlich lassen sich durch Vervielfachung der unkomplizierten Apparatur leicht Serienbestimmungen durchführen. Bei Einrichtung für Doppelanalysen kann man an einem Tage ohne große Mühe acht bis zwölf Harnstoffanalysen bewältigen.

III. Modellversuche.

Wir suchten die Brauchbarkeit der vorstehend geschilderten Methode zunächst an Modellversuchen zu erweisen. Einmal war zu

[1]) Siehe *Pincussen*, Mikromethodik. Leipzig, Thieme, 1925.

[2]) *Kober*, Journ. Amer. Chem. Soc. **30**, 1279, 1908; zitiert nach *Folin*, Journ. of biol. chem. **11**, 507, 1912.

prüfen, ob und in welcher Breite unter den gewählten Bedingungen eine vollständige Aufspaltung des Harnstoffs stattfindet:

Tabelle I.

2 ccm Harnstofflösung (Stab 1) mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + 0,3 ccm konzentrierter HCl aufgeschlossen und unter Zufügung von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser Harnstoff	n/50 NH_3			Differenz
	berechnet	gefunden		
g	ccm	ccm		%
0,538	17,93	17,85	17,80	— 0,56
0,430	14,34	14,20	14,10	— 1,33
0,269	8,97	9,05	9,05	+ 0,89
0,202	6,74	6,65	6,60	— 1,63
0,135	4,48	4,50	4,45	± 0,00
0,067	2,24	2,25	2,20	— 0,45

Größte Abweichung: + 0,89%, — 1,63%.

Die Resultate zeigen, daß Harnstoffmengen von rund 1,4 bis 10,8 mg, entsprechend 2,34 bis 18,00 ccm n/50 Ammoniak, mit einem Fehler von ± 1,5% wiedergefunden werden.

Weiterhin mußte untersucht werden, ob andere stickstoffhaltige Bestandteile, wie sie im Harn vorkommen, unter den bei der Aufschließung und Destillation herrschenden Bedingungen eine meßbare Zersetzung erleiden. Zu diesem Zwecke wurde eine Reihe von Reinsubstanzen mit Harnstoff gemischt analysiert. Wir haben uns dabei im wesentlichen auf drei Typen beschränkt. Als Beispiel für die aliphatisch gebundene Aminogruppe wählten wir einige Aminosäuren, als Prototyp für den heterozyklisch gebundenen Stickstoff die Harnsäure, als Vertreter der Guanidinoverbindungen das Kreatinin. Dabei wurden die natürlichen Verhältnisse auch pathologischer Harne durch Wahl von hohen Konzentrationen der Nichtharnstoffverbindungen absichtlich stark übertrieben.

Tabelle II.

2 ccm der Glykokoll-Harnstofflösung (Stab 1) mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + 0,3 ccm konzentrierter HCl aufgeschlossen und unter Zufügung von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser		Gesamt-N n/50 NH_3	Glykokoll-N n/50 NH_3	U+N n/50 NH_3			Differenz
Harnstoff	Glykokoll	berechnet	berechnet	berechnet	gefunden		
g	g	ccm	ccm	ccm	ccm		%
0,282	0,227	12,42	3,02	9,40	9,25	9,20	— 1,81
0,141	0,113	6,21	1,51	4,70	4,65	4,60	— 1,49

Größte Abweichung: — 1,81%.

Tabelle III.

2 ccm der Alanin-Harnstofflösung (Stab 1) mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + 0,3 ccm HCl aufgeschlossen und unter Zufügung von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser		Gesamt-N n/50 NH_3 berechnet	Alanin-N n/50 NH_3 berechnet	U+N n/50 NH_3			Differenz
Harnstoff	Alanin			berechnet	gefunden		
g	g	ccm	ccm	ccm	ccm		%
0,282	0,250	12,21	2,81	9,40	9,30	9,20	— 1,60
0,141	0,125	6,11	1,41	4,70	4,70	4,60	— 0,43

Größte Abweichung: — 1,60%.

Tabelle IV.

2 ccm Leucin-Harnstofflösung (Stab 1) mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + konzentrierter HCl aufgeschlossen und unter Zufügung von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser		Gesamt-N n/50 NH_3 berechnet	Leucin-N n/50 NH_3 berechnet	U+N n/50 NH_3			Differenz
Harnstoff	Leucin			berechnet	gefunden		
g	g	ccm	ccm	ccm	ccm		%
0,169	0,332	8,16	2,53	5,63	5,60	5,50	— 1,42
0,127	0,249	6,13	1,90	4,23	4,30	4,25	+ 1,18

Größte Abweichung: + 1,18%, — 1,42%.

Tabelle V. 2 ccm Cystin-Harnstofflösung (Stab 1) mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + 0,3 ccm konzentrierter HCl aufgeschlossen und unter Zufügung von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser		Gesamt-N n/50 NH_3 berechnet	Cystin-N n/50 NH_3 berechnet	U+N n/50 NH_3			Differenz
Harnstoff	Cystin			berechnet	gefunden		
g	g	ccm	ccm	ccm	ccm		%
0,282	0,2595	11,56	2,16	9,40	9,40	9,30	— 0,53
0,141	0,1298	5,78	1,08	4,70	4,70	4,65	— 0,43

Größte Abweichung: — 0,53%.

Tabelle VI. 2 ccm Harnsäure-Harnstofflösung (Stab 1) mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + 0,3 ccm konzentrierter HCl aufgeschlossen und unter Zufügung von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser		Gesamt-N n/50 NH_3 berechnet	Harnsäure-N n/50 NH_3 berechnet	U+N n/50 NH_3			Differenz
Harnstoff	Harnsäure			berechnet	gefunden		
g	g	ccm	ccm	ccm	ccm		%
0,282	0,422	19,44	10,04	9,40	9,70	9,55	+ 2,45
0,141	0,211	9,72	5,02	4,70	4,85	4,80	+ 2,77

Größte Abweichung: + 2,77%.

Tabelle VII.

2 ccm Kreatinin-Harnstofflösung (Stab 1) mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + 0,3 ccm konzentrierter HCl aufgeschlossen und unter Zufügung von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser		Gesamt-N n/50 NH_3 berechnet	Kreatinin-N n/50 NH_3 berechnet	U+-N n/50 NH_3			Differenz
Harnstoff	Kreatinin			berechnet	gefunden		
g	g	ccm	ccm	ccm	ccm		%
0,282	0,271	16,59	7,19	9,40	9,35	9,25	— 1,06
0,141	0,136	8,30	3,60	4,70	4,70	4,65	— 0,43

Größte Abweichung: — 1,06%.

Tabelle VIII.

2 ccm des Harnstoffgemisches mit 1 Tropfen konzentrierter HCl + 3 Tropfen Alkohol getrocknet, mit 5 g $MgCl_2 . 6 H_2O$ + 0,3 ccm konzentrierter HCl aufgeschlossen und unter Zusatz von 10 ccm 40% KOH destilliert.

In 100 g Wasser			Gesamt-N n/50 NH_3 berechnet	Zusatz-N n/50 NH_3 berechnet		U+-N n/50 NH_3			Differenz
Harnstoff	Zusatzsubstanzen					berechn.	gefunden		
g	g		ccm	ccm		ccm	ccm		%
0,282	Glykokoll	0,222	31,29	Glykokoll-N	2,95	9,40	9,50	9,45	+0,85
	Alanin	0,125		Alanin-N	1,40				
	Leucin	0,082		Leucin-N	0,62				
	Cystin	0,131		Cystin-N	1,09				
	Harnsäure	0,316		Harnsäure-N	7,51				
	Kreatinin	0,314		Kreatinin-N	8,32				
0,141	Glykokoll	0,111	15,66	Glykokoll-N	1,48	4,70	4,75	4,70	+ 0,64
	Alanin	0,063		Alanin-N	0,70				
	Leucin	0,041		Leucin-N	0,31				
	Cystin	0,065		Cystin-N	0,55				
	Harnsäure	0,158		Harnsäure-N	3,76				
	Kreatinin	0,157		Kreatinin-N	4,16				

Größte Abweichung: + 0,85%.

Die Versuche (Tabellen II bis VIII) lassen erkennen, daß von den benutzten Substanzen keine einzige eine meßbare Zersetzung erfahren hat; denn die Abweichungen vom theoretischen Harnstoffwert bewegen sich durchaus im Bereich der Fehlergrenzen bei Bestimmung reiner Harnstofflösungen. Diese Befunde haben insofern besonderes Interesse, als seinerzeit die Zersetzbarkeit von Kreatinin, Hippursäure bzw. Glykokoll, sowie Harnsäure bei Bekanntwerden der *Folin*schen Originalmethode behauptet wurde[1]). *Folin* hat diese Behauptung entkräftet[2]).

[1]) *Arnold* und *Mentzel*, Zeitschr. f. phys. Chem. **36**, 49, 1902.
[2]) *O. Folin*, ebendaselbst **36**, 333, 1902; **37**, 548, 1903.

Unsere Resultate stützen die *Folin*sche Ansicht auch bei Analyse der zehnfach kleineren Harnstoffmengen.

IV. Vergleich der Magnesiumchloridmethode mit dem Ureaseverfahren an verschiedenartigen Harnen.

Die Beweiskraft der Modellversuche wurde nun durch Anwendung der Methode auf das in Frage stehende Objekt gestützt.

Da bekanntlich die Zusammensetzung des Harnstickstoffs bei verschiedenen Tierarten eine verschiedene ist und unter anderem eine Funktion der Ernährung darstellt, so haben wir je eine Serie von Carnivoren-, Herbivoren- und Omnivorenharnen vergleichsweise mit der Magnesiumchloridmethode und dem Ureaseverfahren durchuntersucht. Bei der Mikroureasebestimmung wählten wir folgende Ausführung:

2 ccm zehnfach verdünnter Harn + 1 ccm Wasser + 1 ccm Pufferlösung (111 g sekundäres Natriumphosphat, 85 g primäres Kaliumphosphat, Wasser zu 1000,0) wurden mit 0,1 g Sojabohnenmehl versetzt, 45 Minuten im Wasserbad bei etwa 40° C belassen, darauf mit 1 ccm gesättigter Na_2CO_3-Lösung alkalisiert und weiterhin ein mittelstarker Luftstrom 40 bis 50 Minuten durchgeleitet. Vorlage und Titration mit n/50 H_2SO_4 bzw. n/50 NaOH; Methylrot als Indikator.

Tabelle IX. Hundeharne.

Hundeharn Nr.	Gefunden n/50 NH_3				Differenz %
	$MgCl_2$-Methode ccm		Ureasemethode ccm		
1	6,20	6,10	6,10	6,00	+ 1,65
2	8,45	8,35	8,25	8,15	+ 2,44
3	15,95	15,85	15,90	15,80	+ 0,32
4	10,45	10,40	10,20	10,10	+ 2,76
5	9,60	9,50	9,55	9,45	+ 0,53
6	2,75	2,70	2,75	2,65	+ 1,11

Größte Abweichung: + 2,76%.

Tabelle X. Menschenharne.

Menschenharn Nr.	Gefunden n/50 NH_3				Differenz %
	$MgCl_2$-Methode ccm		Ureasemethode ccm		
1	13,65	13,50	13,50	13,45	+ 0,74
2	3,85	3,80	3,90	3,85	— 1,29
3	5,80	5,70	5,80	5,75	— 0,52
4	5,50	5,45	5,60	5,50	— 1,26
5	7,35	7,30	7,45	7,35	— 0,95
6	7,50	7,40	7,55	7,50	— 1,06

Größte Abweichung: + 0,74%,
— 1,29%.

Tabelle XI.

Kaninchenharne.

Kaninchenharn Nr.	Gefunden n/50 NH_3				Differenz %
	$MgCl_2$-Methode ccm		Ureasemethode ccm		
1	11,50	11,30	11,55	11,45	— 0,87
2	10,00	9,95	9,70	9,65	+ 3,10
3	5,75	5,70	5,65	5,60	+ 1,78
4	7,20	7,05	7,05	7,05	+ 1,14
5	14,30	14,15	14,15	14,00	+ 1,07
6	18,40	18,25	18,70	18,30	— 0,92
7	8,00	7,90	7,90	7,80	+ 1,27
8	8,75	8,65	8,65	8,65	+ 0,58
9	5,40	5,35	5,45	5,25	+ 0,56

Größte Abweichung: + 3,10%,
— 0,92%.

Die an Menschen-, Kaninchen- und Hundeharnen mit dem Magnesiumchloridverfahren ermittelten Harnstoffwerte stimmen, abgesehen von wenigen Ausnahmen, mit den nach dem Ureaseverfahren gewonnenen Resultaten gut überein; die Abweichungen sind jedenfalls nicht größer als die an reinen Harnstofflösungen vom theoretischen Wert gefundenen.

V. Die Mikroharnstoffbestimmung im Harn bei Anwesenheit ureaseschädigender Substanzen.

Während bisher von der Mikroharnstoffbestimmung mit Hilfe des Magnesiumchlorids nur als einer Hilfs- oder Ersatzmethode die Rede war, gibt es doch eine Reihe von Fällen, in denen die Ureasemethode versagt, nämlich bei Analyse von Harnen, die „Fermentgifte" enthalten. Von diesen kommen vor allem, wie bekannt, Schwermetalle in Betracht, die die Anwendung der Ureasemethode gerade für pharmakologisch-toxikologische Fragestellungen vereiteln können. An einem Beispiel wurde für solche Fälle die absolute Überlegenheit des Magnesiumchloridverfahrens bewiesen: für den Sublimatharn. Auf die Untersuchung von Harnen, die andere Ureasegifte, speziell aus der Arsen-, Kupfer-, Nickelreihe enthalten, konnte um so mehr verzichtet werden, als es hier nur auf das Prinzipielle ankommt und ihre ureasehemmende Wirkung ebenso wie die des Sublimats bereits von anderen Autoren studiert ist[1]).

Menschenharn, dem steigende Konzentrationen von Sublimat zugesetzt wurde, zeigte bei Analyse nach beiden Methoden folgende Harnstoffwerte:

[1]) Literatur bei *Lövgren*, diese Zeitschr. **119**, 215, 1921.

Tabelle XII.

Versuche mit Sublimat (Menschenharn + Sublimat).

Sublimatkonzentration	Gefunden Harnstoff, entsprechend n/50 NH_3				Ureasehemmung %
	$MgCl_2$-Methode ccm		Ureasemethode ccm		
0	7,50	7,40	7,55 7,50	7,50 7,45	0
1:1000000	7,50	7,40	7,35 7,30	7,35 7,30	2,27
1: 500000	7,50	7,50	7,30	7,20	3,33
1: 100000	7,50	7,45	7,30 7,20	7,25 7,20	3,47
1: 75000	—	—	5,50	5,30	28,00
1: 50000	—	—	4,35	4,30	42,27
1: 30000	7,50	7,45	2,30	2,10	70,67
1: 10000	7,50	7,50	1,40	1,15	82,93

Gegenüber der beobachteten Ureasehemmung bleibt das Sublimat auf die Resultate nach der Magnesiumchloridmethode ohne jeden Einfluß. Da *Jacoby*[1]) viel stärkere Hemmungseffekte des Sublimats bei der Harnstoffspaltung durch Urease beobachtet hatte, wurde weiter geprüft, ob Zusatz des Sublimats zur Urease anstatt zum Harn stärkere Hemmungen bewirkt. Das ist in gewissem Umfang der Fall, wie sich aus folgenden Zahlen ergibt:

Tabelle XIII.

Vorvergiftung des Sojabohnenmehls.

Sublimatkonzentration	Gefunden n/50 NH_3 ccm		Ureasehemmung %
0	7,50	7,45	0
1:1000000	7,10	7,00	5,75
1: 500000	7,10	—	5,08
1: 100000	7,15	7,10	4,68

Doch bleibt auch jetzt noch die gefundene Hemmung weit hinter der von *Jacoby* gemessenen zurück. Die Erklärung liegt darin, daß *Jacoby* bei seinen Ureasestudien ein weitgehend gereinigtes Ferment benutzte, während wir mit Sojabohnenmehl arbeiteten. Daß der große Gehalt dieses Mehls an Ballast-, speziell Eiweißstoffen, eine erhebliche Menge von Hg-Ionen bindet und seiner Wirksamkeit entzieht, liegt

[1]) *M. Jacoby*, diese Zeitschr. **76**, 275 bis 296, 1916.

auf der Hand und wird durch folgenden Versuch mit einem wässerigen Sojabohnenmehlextrakt bewiesen:

Tabelle XIV.

Wässeriger Extrakt + Sublimat.

Sublimatkonzentration	Gefunden n/50 NH_3 ccm		Ureasehemmung %
0	7,50	7,40	0
1 : 1000000	7,10	7,00	5,37
1 : 500000	6,60	6,55	11,68
1 : 100000	0,90	0,70	89,26

VI. Die Analyse zuckerhaltiger Harne.

Die Anwesenheit von Zucker im Harn führt, wie die Arbeiten der älteren Autoren vielfach gezeigt haben[1]), bei der durch Hitze in saurer Reaktion bewirkten Harnstoffspaltung leicht zu Fehlresultaten, indem Harnstoffverluste von 30% und mehr eintreten können. Was für die Makromethoden gilt, hat sich in ähnlichem Ausmaße auch bei der von uns beschriebenen Mikromethode gezeigt (s. Tabellen XV und XVI). Die Harnstoffverluste sind nach dem jetzigen Stande der Kenntnisse dadurch bedingt, daß der Harnstoff bei der zu seiner Zersetzung nötigen Temperatur mit dem gleichzeitig anwesenden Zucker Synthesen im Sinne der Ureidbildung eingeht.

Das Bedürfnis, die Mikroharnstoffanalyse mittels Magnesiumchlorids auch für zuckerhaltige Harne brauchbar zu machen, ergab sich vor allem aus der Tatsache, daß die Ausscheidung von ureaseschädigenden Metallsalzen häufig mit Glykosurie einhergeht. Es gelingt nun auf sehr einfache Weise, den Harn zuckerfrei zu machen, indem man den Zucker mit festem $Ba(OH)_2$ und Alkohol-Äther zur Ausfällung bringt.

Im einzelnen gingen wir folgendermaßen vor: 1 ccm Harn wurde mit 0,4 g gepulvertem $Ba(OH)_2$ versetzt, einige Minuten stehengelassen und dann mit Alkohol-Äther (2 Teile 95% Alkohol + 1 Teil Äther) auf 20 ccm aufgefüllt. Die Mischung blieb weitere 15 bis 20 Minuten gut verschlossen unter häufigem Umschütteln stehen. Ein aliquoter Teil des wasserklaren Filtrats (z. B. 4 ccm entsprechend 0,2 ccm des unverdünnten Harns) wurde mit zwei Tropfen konzentrierter HCl in üblicher Weise getrocknet, mit Magnesium aufgeschlossen und destilliert.

[1]) *K. A. H. Mörner*, Skand. Arch. f. Phys. **14**, 297, 1903; *B. Schöndorff*, Arch. f. d. ges. Phys. **117**, 275, 1907.

Tabelle XV.

Normaler Harn mit steigendem Zuckerzusatz. Ureasewert: 2,35, 2,30.

Dextrosegehalt %	Gefunden n/50 NH_3. $MgCl_2$-Methode			
	entzuckert ccm		nicht entzuckert ccm	
0,31	2,35	2,30	2,40	2,30
0,63	2,30	2,30	2,05	2,00
1,25	2,30	2,30	1,20	1,05
2,50	2,35	2,30	—	—
5,00	2,40	2,30	—	—
10,00	2,40	2,35	—	—

Tabelle XVI.

Diabetikerharne.

Diabetikerharn Nr.	Dextrosegehalt polarimetrisch bestimmt %	Gefunden n/50 NH_3					
		Ureasemethode ccm		$MgCl_2$-Methode			
				entzuckert ccm		nicht entzuckert ccm	
1	3,50	3,25	3,25	3,30	3,20	2,00	1,90
2	0,25	3,20	3,10	—	—	3,15	3,05
3	1,25	1,85	1,75	1,80	1,70	1,30	1,25
4	3,70	3,00	2,95	2,95	2,90	—	—
5	1,00	3,10	3,05	3,05	3,00	—	—

Wie aus Tabellen XV und XVI hervorgeht, geben sowohl Harne, denen Dextrose in steigender Konzentration zugesetzt ist, wie auch Diabetikerharne nach erfolgter „Entzuckerung" Werte, die vorzüglich mit den mit Hilfe der Ureasemethode gewonnenen übereinstimmen. Weiter zeigt sich, daß bei der direkten Analyse des zuckerhaltigen Harnes bis zu einem Zuckergehalt von 0,3 % (also 0,03 % bei zehnfacher Verdünnung) noch brauchbare Harnstoffwerte erhalten werden, so daß wohl erst oberhalb dieser Konzentration die „Entzuckerung" notwendig wird. Es sei aber bemerkt, daß sich auch oberhalb dieser Grenzkonzentration bei der direkten Analyse leidlich stimmende Werte erzielen lassen, wenn man die Trocknung des Harns besonders vorsichtig (bei etwa 40° C) vornimmt. Doch haben wir von weiteren Versuchen in dieser Richtung Abstand genommen, da das Vorgehen dann zu zeitraubend wird und die Entfernung des Zuckers unter den gegebenen Bedingungen die einfachere und sicherere Methode darstellt.

VII. Beschreibung des Analysengangs für den Harn.

2,0 ccm des passend verdünnten Harns: normalerweise 1 : 10, bei sehr dünnen Harnen 1 : 5, bei stark konzentrierten, insbesondere bei Carnivorenharnen 1 : 20 bis 1 : 40, werden in einen Mikrokjeldahlkolben

von 100 ccm Fassungsvermögen pipettiert. Man gibt dazu 2 bis 3 Tropfen 95% Alkohol und 1 Tropfen 38% HCl.

Bezüglich der Vorbereitung zuckerhaltiger Harne vergleiche man Abschnitt VI.

Man bringt dann den Kolben in ein vorher bis nahe zum Sieden erhitztes Wasserbad und evakuiert die angeschaltete Vorlage mit der Wasserstrahlpumpe. Die 15 bis 20 Minuten erfordernde Trocknung erfolgt ohne Siedekapillare (s. Abb. 2a).

Zu dem aus dem Wasserbad genommenen Trockenrückstand fügt man 0,3 ccm 38% HCl + 5,0 g $MgCl_2 . 6 H_2O$. Man wägt das stets im Exsikkator über P_2O_5 aufbewahrte Präparat möglichst rasch und bringt den Vorrat sogleich wieder in den Exsikkator zurück. Der Kolben wird sofort an einen Rückflußkühler nach *Allihn* (s. Abb. 2b) angeschlossen und über einem Asbestdrahtnetz mit kleiner Flamme — die Flammenspitze soll eben das Asbestdrahtnetz berühren — zum Sieden erhitzt. Nach Ablauf von 30 Minuten, vom Beginn des Erhitzens gerechnet, fügt man zu der noch heißen Schmelze 20 ccm destillierten Wassers von Zimmertemperatur.

Nach dem Erkalten wird der Kolben in die für die Ammoniakdestillation beim Mikrokjeldahlverfahren übliche Apparatur[1]) gefügt. Man schaltet den Luftstrom an, gibt durch den Fülltrichter 10 ccm 40% KOH, spült mit 10 ccm Wasser nach, zündet den Brenner an und leitet bei einer Geschwindigkeit von 1 bis 1,2 Liter pro Minute 15 bis 20 Minuten den Luftstrom durch. Vorlage und Titration mit n/50 H_2SO_4 und n/50 NaOH, Methylrot als Indikator.

Der nach Abzug des Blindwertes — der für jedes neue Magnesiumchloridpräparat in mehreren Versuchen zu bestimmen ist — verbleibende Ammoniakwert ergibt Harnstoff plus präformiertes Ammoniak. Die Größe des präformierten Ammoniaks muß genau wie beim Ureaseverfahren gesondert bestimmt werden. Die Berechnung gestaltet sich wie beim Ureaseverfahren.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Mikroharnstoffbestimmung im Harn mit Hilfe von Magnesiumchlorid angegeben.

2. Der Anwendungsbereich der Methode insbesondere mit Hinblick auf pharmakologisch-toxikologische Fragestellungen wird erörtert.

---

[1]) *Pincussen*, Mikromethodik. Leipzig, Thieme, 1925.

Über Löslichkeit und Verteilung des Chloroforms im Blute.

Von

Hans Winterstein und **Else Hirschberg.**

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Rostock.)

(Eingegangen am 9. April 1927.)

Die Frage nach der Löslichkeit und Verteilung des Chloroforms im Blute ist von beträchtlichem theoretischen Interesse. Haben doch *Pohls*[1]) Untersuchungen hierüber gewissermaßen den Ausgangspunkt der Lipoidtheorie gebildet. Die Angaben der verschiedenen Autoren aber gehen so außerordentlich weit auseinander[2]), daß eine Klärung dieser Verhältnisse angezeigt erschien. Nicht einmal über die Löslichkeit des Chloroforms in Wasser besteht Einigkeit. *Kochmann* (a. a. O., S. 137) gibt für 22° als maximale Löslichkeit 0,62 Gew.-%, *Moore* und *Roaf*[3]) für 13° etwa 0,95 Gew.-%; im Blutserum würde nach den letzteren die Löslichkeit sogar 4 bis 5% betragen! Die ganzen Untersuchungen dieser Autoren, an deren Ergebnisse sie weitgehende Schlüsse über eine chemische Bindung des Chloroforms an das Eiweiß knüpften, sind jedoch äußerst unexakt. Sie verfügten über keine genaue Methode der direkten Chloroformbestimmung und verfuhren meist einfach in der Weise, daß abgemessene Mengen der auf ihr Lösungsvermögen zu untersuchenden Flüssigkeiten mit verschiedenen Quantitäten Chloroform versetzt wurden; dann wurde beobachtet, bei welcher Menge keine Kügelchen ungelösten Chloroforms mehr zurückblieben. Es liegt auf der Hand, daß bei einer Flüssigkeit von so geringer Löslichkeit das Zurückbleiben mikroskopisch kleiner Mengen ungelöster Substanz genügen muß, um eine viel zu große Löslichkeit vorzutäuschen, und wir werden in der Tat sehen, daß von einer so enormen Differenz zwischen der Löslichkeit in Wasser und in Serum gar keine Rede sein kann.

---

[1]) *J. Pohl*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **28**, 239, 1891.

[2]) *Kochmann*, Handb. d. exper. Pharm. **1**, 158, 1923; *Winterstein*, Die Narkose, 2. Aufl., 1926, S. 228.

[3]) *Moore* and *Roaf*, Proc. Roy. Soc. London **73**, 382, 1904; (B) **77**, 86, 1906.

Methodik.

Die Bestimmung des Chloroforms erfolgte nach dem Verfahren von *Nicloux*[1]), das für die bei der Untersuchung verwendeten Mengen von 0,2 bis 10 mg eine recht befriedigende Genauigkeit ergibt. Es beruht auf der Spaltung des Chloroforms durch Kochen mit Natriumäthylat und Titration des dabei gebildeten NaCl. Bei Cl-haltigen Flüssigkeiten (NaCl-Lösung, Blut, Serum) wurde stets ein Leerwert ohne Chloroform gefunden, der in einer Größe von etwa 0,02 mg pro Kubikzentimeter in Abzug gebracht wurde. Im übrigen wurde genau nach den Vorschriften von *Nicloux* gearbeitet, nur wurden an Stelle der von ihm beschriebenen Vorrichtungen sowohl Rückflußkühler wie Destillationsapparat mit Schliffen angewandt, um möglichst jeden Verlust zu vermeiden.

Zur Bestimmung der maximalen Löslichkeit des Chloroforms in destilliertem Wasser und physiologischer Kochsalzlösung wurden verschiedene Verfahren eingeschlagen: 1. Es wurde durch zwei bis drei hintereinander geschaltete Waschflaschen ein kontinuierlicher Luftstrom hindurchgesaugt, der durch Passieren einer mit reinem Chloroform beschickten Flasche mit Chloroformdampf gesättigt war; es wurden so lange Proben entnommen, bis (nach mehreren Tagen) Konstanz des Chloroformgehalts eingetreten war. 2. Es wurde in einem Kölbchen unter die zu untersuchende Flüssigkeit etwas Chloroform gebracht und in einem Schüttelapparat bis zur Konstanz umgeschwenkt. 3. Es wurde ein Flüssigkeitsquantum mit Chloroform gut durchgeschüttelt und dann mehrere Stunden zur Absetzung des ungelösten Chloroforms stehengelassen. 4. Es wurde ein Luftstrom, der durch Passieren von Chloroform mit diesem gesättigt war, *über* die Lösung (nicht durch sie hindurch) geleitet, während sie im Schüttelapparat in ständiger Bewegung gehalten wurde. Dieses Verfahren wurde bei Blut und Serum fast allein angewandt, um ein Schäumen sowie eine zu rasche Veränderung der Lösung durch das Chloroform zu vermeiden, das bekanntlich ein Lackfarbenwerden des Blutes und in höheren Konzentrationen eine Ausfällung des Eiweißes herbeiführt.

I. Maximale Löslichkeit des Chloroforms in verschiedenen Lösungsmitteln.

Alle vier oben genannten Verfahren führten zu gut übereinstimmenden Werten: Die maximale Löslichkeit des Chloroforms beträgt bei Temperaturen von 16 bis 18° im destillierten Wasser 0,54 bis 0,55 Gew.-%, in physiologischer Kochsalzlösung 0,48 bis 0,50 Gew.-%. Die höchste bei Säugetierblut (Hammel, Rind, Kaninchen) beobachtete Aufnahme aus $CHCl_3$-gesättigter Luft betrug 0,75 bis 0,86 %, bei Serum 0,56 bis 0,77 %. Dieses Maximum ist im allgemeinen nach halbstündigem Überleiten von Chloroformdampf bereits erreicht. Die Löslichkeit im eben noch unveränderten Serum ist mithin nur 50 % höher als in physiologischer Kochsalzlösung; hierbei beginnt sich das Serum bereits leicht zu trüben und das Blut wird lackfarben. An demselben Blut untersucht, ist die Löslichkeit im Gesamtblut stets größer als in der Blutflüssigkeit allein. Wir kommen darauf im folgenden noch genauer zurück.

[1]) *Nicloux* et *Yovanovitch*, Ann. d. Physiol. **1**, 444, 1925.

II. Die Verteilung des Chloroforms auf Blutflüssigkeit und Blutkörperchen.

Die Verteilung des Chloroforms innerhalb des Blutes ist wiederholt untersucht worden, seit *Pohl* (a. a. O.) als erster die Angabe machte, daß es vorwiegend von den roten Blutkörperchen aufgenommen werde; auch in diesem Punkte aber ist keine Einigung erzielt worden und die Angaben schwanken zwischen jenen von *Nicloux*[1]), der den Gehalt der Blutkörperchen sieben- bis achtmal so groß fand wie den des Plasmas und jenen von *van Dessel*[2]), der im Serum sogar mehr Chloroform gefunden haben will als in den Blutkörperchen! Da eine direkte exakte Bestimmung des Chloroformgehalts der Blutkörperchen schwer ausführbar erscheint, haben wir auf sie verzichtet und nur den Chloroformgehalt des Gesamtblutes und den des abzentrifugierten Plasmas oder Serums bestimmt, aus welchen beiden Werten bei bekanntem Volumen der Blutkörperchen der Gehalt der letzteren ja leicht zu berechnen ist. (Bezeichnet b den Chloroformgehalt des Gesamtblutes, f jenen der Blutflüssigkeit und v das Blutkörperchenvolumen in Prozenten, so ist der Prozentgehalt der Blutkörperchen $x = f + \frac{100\,(b-f)}{v}$.) Die Resultate unserer Bestimmungen sind in Tabelle I zusammengestellt.

Betrachten wir die in dieser Tabelle enthaltenen Werte, so erscheint trotz mancherlei Unregelmäßigkeiten wohl deutlich eine Gesetzmäßigkeit ableitbar: Je größer der $CHCl_3$-Gehalt des Blutes, um so geringer im allgemeinen der Unterschied zwischen dem Gehalt der Blutkörperchen und dem der Flüssigkeit (in der letzten Spalte der Tabelle ist das Verhältnis beider angegeben). Bei dem nahe der Sättigung liegenden Gehalt von 6 bis 8 $^0/_{00}$ ist der Gehalt der Körperchen höchstens doppelt so hoch wie der des Plasmas, bei den in der Narkose in Betracht kommenden Konzentrationen (0,05 bis 0,6 $^0/_{00}$) ist er entsprechend den alten Angaben von *Pohl* 2,5- bis 4mal so groß, und bei ganz geringem $CHCl_3$-Gehalt von etwa 0,01 bis 0,02 $^0/_{00}$ kann der Gehalt der Körperchen den des Plasmas um das Fünf- bis Sechsfache übertreffen. In ganz besonders deutlicher Weise tritt die Abhängigkeit der Verteilung des Chloroforms von der Konzentration in den Versuchen 12 und 13 hervor, in denen an ein und demselben Blute je drei Bestimmungen bei wechselndem Chloroformgehalt angestellt wurden. Das Verhältnis zwischen dem $CHCl_3$-Gehalt der Blutkörperchen und dem des Plasmas änderte sich hier augenfällig in umgekehrtem Sinne wie die absolute Größe des $CHCl_3$-Gehalts. Diese Feststellung liefert wohl nicht bloß die Erklärung für die große Verschiedenheit der Resultate, die die einzelnen Untersucher der Chloroformverteilung erhalten haben, sie gibt darüber

Tabelle I.

[1]) *M. Nicloux*, C. r. soc. biol. **60**, 248, 1906.

[2]) *van Dessel*, Arch. internat. d. pharmacodyn. et d. ther. **27**, 1, 1923.

Tabelle 1.

Nr.	Flüssigkeit	Behandlung der Flüssigkeit	$CHCl_3$-Gehalt in Promille	Volumen der Blutkörperchen	Berechneter $CHCl_3$-Gehalt der Körperchen in Promille	Gehalt der Körperchen durch Gehalt der Flüssigkeit
1	Defibr. Kaninchenblut Serum	25 Min. Überleiten von $CHCl_3$-Dampf	8,20 6,10	41	11,22	1,37
2	Defibr. Hammelblut Serum	15 „ „ „ „	7,76 6,48	38	9,85	1,52
3	Oxalat. Kaninchenblut „ Plasma	15 „ „ „ „	3,55 3,03	25	5,11	1,69
4	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma	15 „ „ „ „	6,46 5,52	35	8,21	1,49
	Dasselbe Blut „ Plasma	150 „ „ „ „	7,20 5,64		10,10	1,79
5	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma	15 „ „ „ „	6,08 5,44	39	7,08	1,30
	Dasselbe Blut „ Plasma	17 Std. „ „ „	7,76 5,64		11,07	1,96
6	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma	30 Min. „ „ „	7,36 5,80	38	9,90	1,71
	Dasselbe Blut „ Plasma	7 Std. „ „ „	7,46 5,86		9,86	1,68
7	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma	5 Min. „ „ „	2,83 1,55	40,5	4,71	3,04
	Dasselbe Blut „ Plasma	15 „ „ „ „	6,32 4,56		8,90	1,95
8	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma	$CHCl_3$-Narkose	0,056 0,026	Bestimm. mißglückt ber. für 40	0,101	3,50

Tabelle I (Fortsetzung).

Nr.	Flüssigkeit	Behandlung der Flüssigkeit	$CHCl_3$-Gehalt in Promille	Volumen der Blutkörperchen	Berechneter $CHCl_3$-Gehalt der Körperchen in Promille	Gehalt der Körperchen durch Gehalt der Flüssigkeit
9	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma	$CHCl_3$-Narkose	0,058 0,028	40	0,103	3,68
10	Defibr. Kaninchenblut Serum Dasselbe Blut Serum	Zusatz von $CHCl_3$-NaCl-Lösung Desgleichen etwas mehr	0,020 0,0075 0,0225 0,010	35	0,040 0,046	5,33 4,60
11	Hirudin-Kaninchenblut (von 9) „ -Plasma Dasselbe Blut „ Plasma	10 Min. / 30 „ Überleiten von $CHCl_3$-Wasser-Dampf	1,00 0,35 1,28 0,68	40	1,98 2,18	6,09 3,21
12	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma Dasselbe Blut „ Plasma Dasselbe Blut „ Plasma	5 Min. / 15 „ / 30 „ Überleiten von $CHCl_3$-Wasser-Dampf (schwächer)	0,008 0,003 0,010 0,005 0,100 0,060	35	0,017 0,019 0,174	5,67 3,80 2,90
13	Hirudin-Kaninchenblut „ -Plasma Dasselbe Blut „ Plasma Dasselbe Blut „ Plasma	5 „ / 15 „ / 30 „ Überleiten von $CHCl_3$-Wasser-Dampf (stärker)	0,55 0,28 0,61 0,37 0,78 0,56	36	1,03 1,04 1,17	3,68 2,81 2,09

hinaus wichtige Anhaltspunkte für die Art ihres Zustandekommens. Daß der Lipoidgehalt von Körperchen und Flüssigkeit zur Erklärung der Verteilung nicht herangezogen werden kann, weil der erstere gar nicht viel größer ist als der zweite, ist schon an anderer Stelle (Narkose, S. 316) hervorgehoben worden. Unsere Versuche zeigen, daß es sich beim Chloroform überhaupt nicht um eine einfache Verteilung handeln kann, denn diese müßte von der Konzentration unabhängig sein. Die *relative* Abnahme des $CHCl_3$-Gehalts der Blutkörperchen mit wachsender Konzentration spricht vielmehr deutlich für eine Beteiligung von *Adsorptionsvorgängen*, die sich offenbar an den korpuskulären Teilchen abspielen und mit der Lipoidtheorie in gar keinem Zusammenhang stehen.

Zusammenfassung.

Die maximale Löslichkeit des Chloroforms beträgt bei Zimmertemperatur in destilliertem Wasser 0,55 Gew.-%, in physiologischer Kochsalzlösung 0,50 Gew.-%, in unverändertem Serum 0,56 bis 0,77 (Gesamtblut 0,75 bis 0,86) Gew.-%.

Die Verteilung des Chloroforms auf Körperchen und Blutflüssigkeit hängt ab von der absoluten Höhe der Chloroformkonzentration. Bei den nahe der Sättigung liegenden Werten nehmen die Körperchen höchstens doppelt so viel $CHCl_3$ auf wie das Plasma, während bei sehr niedrigen Konzentrationen der Gehalt der Körperchen das Vier- bis Sechsfache des Plasmawertes erreichen kann. Dies zeigt, daß bei der Verteilung Adsorptionsvorgänge an den korpuskulären Bestandteilen eine wesentliche Rolle spielen.

Über die Eigenschaften aktiver Eisenverbindungen[1]).

Von

A. Bickel und C. van Eweyk.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 9. April 1927.)

Durch die Arbeiten von *Baudisch* (1) ist die Aufmerksamkeit auf das Verhalten bestimmter Eisenverbindungen gelenkt worden, die dieser Forscher als aktiv bezeichnet. *Baudisch* ging aus von bestimmten frischen Mineralwässern, deren Fähigkeit, nur in frischem, nicht aber in gealtertem Zustande die Benzidinreaktion zu geben, er auf Eisenverbindungen zurückführen konnte. Es gelang ihm, künstlich derartige Verhältnisse an Ferro-Bicarbonatsystemen zu verifizieren. Darüber hinaus fand er, daß schon länger bekannte Unterschiede zwischen „allotropen Modifikationen" des Eisenoxyds, Fe_2O_3, auch bezüglich der Benzidinreaktion bestehen. Derartige Eisenverbindungen, welche sich einer Benzidin-Wasserstoffsuperoxydlösung gegenüber wie Blut verhalten, bezeichnete *Baudisch* als aktiv.

Es war zu erwarten, daß solche aktiven Eisenverbindungen sich auch bezüglich sonstiger Wirkungen voneinander unterscheiden müßten, und so wurde gleichfalls von *Baudisch* eine besondere Wirksamkeit des aktiven Eisens gegenüber einem bestimmten Bakterium festgestellt. Damit war eine verschiedene Reaktionsweise des Eisens, je nachdem, ob es aktiv oder inaktiv ist, auch biologischen Systemen gegenüber festgestellt. Daß die besondere Reaktionsweise der aktiven Eisenverbindungen auch an höheren Tieren besteht, läßt sich nach dem uns vorliegenden Material nicht bezweifeln [Elsterversuche von *Bickel*, *Gleichmann* und *Taslakowa* (2), Eisenoxydversuche von *Wada* (5)].

Während es sich bei dem aktiven Eisenoxyd um eine sehr beständige Substanz handelt, deren Fähigkeit, eine positive Benzidin-

[1]) Das in dieser Arbeit erwähnte benzidinaktive, magnetische Eisenoxyd wird von der Auergesellschaft in Berlin unter dem Namen „*Siderac*" in den Handel gebracht.

reaktion zu geben, nach unseren Erfahrungen viele Monate hindurch unverändert bestehen bleibt und höchstwahrscheinlich, außer durch Temperaturen oberhalb 400° C, überhaupt nicht nachweisbar abgeschwächt werden kann, da es sich anscheinend um die bei normaler Temperatur stabilere Modifikation des Eisenoxyds handelt, ist die Aktivität der Mineralwässer nur kurze Zeit beständig und kann schon nach wenigen Stunden vollkommen verschwunden sein. Das gleiche Schwinden der Aktivität beobachtete *Baudisch* an seinen Ferro-Bicarbonatsystemen.

Der Verlust der Aktivität im wässerigen Medium bei den Bicarbonatlösungen und bei den Mineralwässern scheint nach *Baudisch* folgendermaßen zu geschehen: Das Eisenion als solches ist nicht aktiv. Aktiv sind nur bestimmte Komplexe, insbesondere komplexe Kohlensäureverbindungen, die unter den gewöhnlichen Bedingungen (Anwesenheit von atmosphärischer Luft unter dem gewöhnlichen Druck, Temperatur) sich bald unter Bildung von Eisenionen oder von oxydischen Niederschlägen zersetzen. Diese Auffassung steht durchaus im Einklang mit dem Verhalten einer weiteren, gleichfalls von *Baudisch* untersuchten aktiven Eisenverbindung, dem Natriumpentacyanoaquoferroat, welche sich aus dem Ferrocyannatrium unter der Einwirkung des Lichtes bildet und bei zu weit getriebener Belichtung in wässeriger Lösung wieder unter weiterer Zersetzung zerstört wird. Demgegenüber bleibt die Aktivität des festen trockenen aktiven Eisenoxyds dauernd konstant, ebenso übrigens auch die des trockenen, vor Licht geschützten Natriumpentacyanoaquoferroats.

Wir haben nun einige unserer aktiven Eisenpräparate auf ihre Haltbarkeit bei Gegegenwart von Wasser geprüft. Zur Verwendung gelangte 1. das aktive Eisenoxyd nach *Baudisch*, 2. ein von *van Eweyk* und *Tennenbaum* hergestelltes Ferro-Ferricarbonat von grünlicher Farbe, das außerordentlich benzidinaktiv, aber unmagnetisch war, 3. ein unmagnetisches Eisenoxyd, das aus (2) durch längeres Erhitzen an der Luft auf etwa 50° gewonnen war und ebenso wie 2 eine sehr starke Benzidinreaktion gab. Von diesen Eisenpräparaten wurde je eine Menge von etwa 1 g in Erlenmeyerkolben einmal mit Leitungswasser, andererseits mit destilliertem Wasser übergossen, der Hals der Kolben mit einem Tupfer oberflächlich verschlossen und das Ganze im Laboratorium stehengelassen. Die Aufbewahrung geschah absichtlich so nachlässig wie möglich, indem in die mangelhaft ververschlossenen Gefäße die sehr wechselnd zusammengesetzte Luft des Laboratoriums eindringen konnte.

Nach fünfmonatiger Aufbewahrung, während welcher Zeit das zugesetzte destillierte bzw. Leitungswasser einigemale nachgefüllt wurde, stellte sich bei der Prüfung der Aufschwemmungen mittels der

Benzidinreaktion folgendes heraus: Das aktive magnetische Eisenoxyd nach *Baudisch* hatte seine Aktivität (positive Benzidinprobe und Magnetismus) unverändert, auch unter diesen ungünstigen Bedingungen, anscheinend unvermindert, erhalten. Das Ferro-Ferricarbonat war unter Zersetzung völlig benzidininaktiv geworden und natürlich unmagnetisch geblieben, und das aus ihm gewonnene unmagnetische Oxyd von ursprünglich starker Benzidinaktivität hatte nur noch einen kleinen Rest seiner Aktivität beibehalten.

Hieraus muß gefolgert werden, daß von den aktiven Eisenverbindungen das Oxyd nach *Baudisch* die Aktivität in einer ganz anderen Weise bewahrt als die noch unbekannten Komplexe im Mineralwasser (z. B. der Elsterer Moritzquelle) oder die bekannten Komplexe in Lösungen des Natriumpentacyanoaquoferroats, deren Aktivität bald verschwindet. Eine Mittelstellung scheint unser Carbonat einzunehmen, dessen Aktivität unter den geschilderten Bedingungen immerhin einige Wochen hindurch bestehen blieb.

Wenn *Fresenius* (3) den Verlust der Aktivität beim Mineralwasser auf Veränderungen des Ionenmilieus, insbesondere auf eine Zunahme der OH-Ionen beim „Altern" des Wassers bezieht und annimmt, daß der Begriff einer besonderen Aktivität von Eisenverbindungen sich erübrigt, können wir ihm nicht zustimmen. Das unterschiedliche Verhalten von Eisenverbindungen der Benzidinreaktion gegenüber ebenso wie gegenüber dem tierischen Organismus zwingt zu der Annahme aktiver Moleküle bzw. Molekülkomplexe, wenn auch zwischen der flüchtigen Aktivität der Mineralwässer und der konstanten Aktivität mancher Oxyde die Zwischenglieder noch nicht existieren. Daß der Verlust der Fähigkeit, die Benzidinreaktion zu geben, beim Altern eines Mineralwassers beschleunigt wird, wenn man die Kohlensäure entweichen läßt, hatte schon *Baudisch* hervorgehoben, der gleichfalls fand, daß auch bei noch so sorgfältiger Aufbewahrung die Aktivität nach nicht viel längerer Zeit verschwindet. Das Altern scheint nicht notwendig mit Änderungen des Ionengehalts verbunden zu sein, wie sich aus den Versuchen von *Baudisch* und *Welo* an weißen Eisencarbonaten ergibt (4), die, ohne daß irgend eine Veränderung erkennbar wurde, frisch hergestellte Nitrate zu Nitriten reduzierten, wenige Stunden später diese Fähigkeit vollkommen eingebüßt hatten.

Literatur.

1) *Baudisch*, Naturwiss. 1925, Heft 36, S. 749. — 2) *Bickel, Gleichmann, Taslaskowa*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **54**, 87, 1927. — 3) Vgl. *Harpuder*, Klin. Wochenschr. **6**, 482, 1927. — 4) *Baudisch* und *Welo*, Journ. of biol. Chem. **64**, 753, 1925. — 5) *Wada*, diese Zeitschr. **175**, 62, 1926.

Physikalisch-chemische Untersuchungen bestrahlter Proteine.

I. Mitteilung:

Die Veränderungen des Seralbumins bei Ultraviolettbestrahlung und ihre Beziehungen zur Hitzegerinnung.

Von

Mona Spiegel-Adolf.

(Aus dem Laboratorium für Lichtbiologie und Lichtpathologie am physiologischen Institut der Universität in Wien.)

(Eingegangen am 11. April 1927.)

Eiweißkörper werden bekanntlich durch eine Reihe der verschiedensten physikalischen und chemischen Einwirkungen denaturiert. Trotz des weitgehenden Interesses, welches in physikochemischer und biologischer Hinsicht dem Vorgang und dem Produkt der Eiweißdenaturierung entgegengebracht wird, erscheinen unsere Kenntnisse von etwa nachweisbaren spezifischen Eigentümlichkeiten der einzelnen denaturierenden Agenzien noch mangelhaft. Es dürfte daher ein Versuch berechtigt erscheinen, durch Vergleich der Bedingungen, unter welchen verschiedene physikalische Einflüsse wirksam sind, und der bewirkten Veränderungen zur Aufklärung des Mechanismus der Denaturierung beizutragen.

Nachdem in einer früheren Mitteilung[1]) die Hitzeeinwirkung auf Seralbumin dargestellt worden ist, ist es Zweck der vorliegenden Untersuchung, im Vergleich hierzu die Veränderungen dieses Eiweißkörpers bei Ultraviolettbestrahlung zu studieren.

Was die vorliegende Literatur anbelangt, so widersprechen einander die gelegentlichen Angaben von *Bovie* und *Schanz*. So weist bereits *Bovie*[2]) darauf hin, daß sich das durch ultraviolettes Licht koagulierte Eialbumin bezüglich seiner Löslichkeit in Alkohol, Wasser, verdünnten Säuren und Laugen nicht von seinem Hitzekoagulationsprodukte unterscheidet. *Schanz*[3]) äußert zwar die Meinung, daß Wärme und Licht die Eiweißkörper

[1]) *M. Spiegel-Adolf*, diese Zeitsch. **170**, 126, 1926; Kolloid-Zeitschr. **38**, 127, 1926.

[2]) *W. T. Bovie*, Science, N. S., **37**, 24, 1913.

[3]) *F. Schanz*, Pflügers Arch. **164**, 3, 1916.

in alkalischen und sauren Lösungen gleichsinnig verändern. Während jedoch das Hitzekoagulat von diesem Autor als irreversibel verändert aufgefaßt wird, hält er das durch Belichtung gefällte Eiweiß nicht für denaturiert.

Die systematischen Untersuchungen von *J. H. Clark*[1]) über den Vergleich der Koagulation von Eialbumin durch ultraviolettes Licht und Hitze sind an einem für die eingangs gestellte Frage wenig geeigneten Material ausgeführt worden. So hat sich *Clark* bei ihren Untersuchungen ausschließlich des Eialbumins bedient. In meinen Studien über die Hitzeveränderungen der Albumine konnte jedoch gezeigt werden, daß Ser- und Ovalbumin bei Hitzeeinwirkung verschieden reagieren. Nur das in elektrolytfreiem Zustande zur Koagulation gebrachte Seralbumin, nicht aber das Ovalbumin, vermag durch die weiter unten beschriebenen Eingriffe so verändert zu werden, daß es bislang weder durch physikalisch-chemische noch durch biologische Methoden vom genuinen Protein unterschieden werden kann. Ferner vermag gleichfalls nur das Seralbumin, in einem bestimmten Verhältnisse mit Säure erhitzt, zum größten Teile der Veränderung zu entgehen. Da nun gerade auf Grund dieser Erscheinungen, zu welchen noch ähnliche Befunde am Globulin[2]) kommen, gewisse Vorstellungen über den Mechanismus der Hitzeveränderungen der Proteine entwickelt worden sind, erschien es geboten, die betreffenden Lichtbestrahlungsversuche vor allem an Seralbumin durchzuführen.

Da es in erster Linie auf die Erzielung von Resultaten ankam, die mit denjenigen der Hitzeveränderungsarbeit vergleichbar wären, so wurden in der vorliegenden Untersuchung die Bestrahlungsversuche auf die zwei Fragekomplexe beschränkt, die im wesentlichen den Inhalt der Hitzeveränderungsstudien ausgemacht haben, nämlich das Schicksal des elektrolytfreien Proteins bei Einwirkung des speziellen physikalischen Agens und den Einfluß, den Säure-, Laugen- und Salzzusätze auf diesen Vorgang ausüben.

Das zur Verwendung kommende Material war ein durch Dialyse und Elektrodialyse bei wiederholtem Salzzusatz[3]) aus Pferdeserum hergestelltes Seralbumin, dessen Trockengehalt 0,4%, spezifische Leitfähigkeit $K = 5{,}46 \cdot 10^{-6}$, Wasserstoffionenaktivität $c_H = 5{,}30 \cdot 10^{-6}$, Aschengehalt 0,04% betrugen. An dem gleichen Präparat wurde seinerzeit der größte Teil der Untersuchungen über die Hitzeeinwirkungen ausgeführt.

Als Lichtquelle wurde der nicht mehr ganz neue Brenner einer Quarz-Hg-Dampflampe (Heräus, Hanau) verwendet, die mit Gleichstrom von 220 Volt Spannung betrieben wurde (Stromverbrauch 2,5 Amp.). Die gebrauchte Lampentype war „Bach-Höhensonne" mit einfachem Gehäuse ohne untere Halbkugelhälfte. Die zu be-

[1]) *J. H. Clark*, Amer. Journ. of Physiol. **72**, 230, 1925; **73**, 649, 1925.
[2]) *M. Spiegel-Adolf*, Kolloidchem. Beih. **20**, 288, 1924; Kolloid-Zeitschr. **35**, 342, 1924.
[3]) *M. Adolf* und *Wo. Pauli*, diese Zeitschr. **152**, 360, 1924.

strahlenden Flüssigkeiten befanden sich während des Versuchs in durchsichtigen Quarzeprouvetten von 1 cm Durchmesser und 10 cm Höhe, in 20 cm Abstand von der Mitte des Quarzbrenners. Um die bei dieser geringen Distanz unvermeidliche Erwärmung der Flüssigkeit auszuschalten bzw. herabzusetzen und um die Wirkung dunkler Wärmestrahlen zu verringern, wurden die Quarzröhrchen während der Bestrahlung in einem mit Wasser gefüllten, mit Thermometer versehenen Gefäß aus durchsichtigem Quarz gehalten, dessen Fassungsraum etwa 120 ccm beträgt. Es kommen demnach, abgesehen von der teilweise abgehaltenen dunklen Wärmestrahlung, die gesamten durch Quarz und Leitungswasser hindurchgehenden Strahlen der Hg-Dampflampe in Betracht. Gelegentlich weiterer, an anderer Stelle zu beschreibenden quantitativen Untersuchungen wurde auch festgestellt, daß bei der Quarzlichteinwirkung auf Eiweiß nur die Strahlen kürzerer Wellenlänge wirksam sein dürften, da bei Vorschaltung einer von Prof. *Dorno* geprüften Glasplatte[1]), die Strahlen bis zu Wellenlängen von 325 $\mu\mu$ passieren läßt, die koagulierende Wirkung der Quarzlampenbestrahlung auf Seralbumin ausbleibt. Daß die ultravioletten, von den sichtbaren befreiten Strahlen eine andere Wirkung hätten, ist in Hinblick auf die antagonistische Wirkung verschiedener Strahlenbezirke unwahrscheinlich. Durch häufigen Wasserwechsel wurde die Temperatur des Außengefäßes stets um 20° C gehalten. Stichproben mit Hilfe von geeigneten Thermometern im Innern der Quarzröhrchen ausgeführt, zeigten, daß die Temperatur der Eiweißlösungen 25° nicht überstieg. Die Bestrahlungszeit betrug fast in allen Versuchen zwischen 5 und 6 Stunden. Da nun aus technischen Gründen eine kontinuierliche Bestrahlung nicht möglich war, so mußte dieselbe stundenweise an verschiedenen Tagen ausgeführt werden.

Es wurde zunächst das Verhalten des elektrolytfreien Seralbumins bei der Bestrahlung studiert. Die geringe Konzentration desselben (0,4 %), die etwa derjenigen entspricht, die *Stedman* und *Mendel*[2]) in ähnlichen Versuchen verwendeten, wurde einerseits in Hinblick auf Erfahrungen von *Fernau*[3]) bei Radiumbestrahlungen des Albumins gewählt, nach welchen zunehmende Albuminkonzentrationen ähnlich wie Salz als Strahlenschutz wirken. Auch *Wels* und *Thiele*[4]) verwenden bei ihren Röntgenversuchen weit verdünnte, 0,2 bis 0,8 ‰ Proteinsole. Andererseits war für die Versuche, die sich hauptsächlich mit dem

[1]) *W. Hausmann* und *A. Loewy*, diese Zeitschr. **173**, 1, 1926.

[2]) *H. L. Stedman* und *L. B. Mendel*, Amer. Journ. of Physiol. **77**, 199, 1926.

[3]) *A. Fernau*, diese Zeitschr. **167**, 380, 1926.

[4]) *P. Wels* und *A. Thiele*, Pflügers Arch. **209**, 49, 1925.

physiko-chemischen Verhalten des Niederschlags beschäftigten, eine gewisse Konzentration der Lösung wünschenswert[1]).

Versuchsbeispiel 1[2]). Bei Verwendung der oben beschriebenen Versuchsanordnung trat bereits nach wenigen Minuten eine sich rasch verstärkende Trübung auf, die im Laufe der ersten Stunde sich flockenförmig am Boden der Eprouvette absetzte. Der Niederschlag wurde abzentrifugiert, entfernt und die Bestrahlung fortgesetzt. Unter wiederholtem Bestrahlen (je 1 Stunde) und Abzentrifugieren gelang es bei einer Gesamtbestrahlungsdauer von 5 Stunden 25 Minuten, praktisch (keine Veränderung beim Kochen des Filtrats, feinste Opaleszenz bei Zusätzen von Sulfosalicylsäure) die gesamte Proteinmenge zur Koagulation zu bringen.

Um nun den Nachweis zu führen, daß bei dieser Fraktionierung der Bestrahlungsdauer eine etwaige Latenzwirkung keine Rolle spielt, und Experimente, bei welchen die Gesamtbestrahlungsdauer die gleiche ist, vergleichbar sind, wurde folgender Versuch ausgeführt:

Versuchsbeispiel 2. Um die Bestrahlungswirkung zu verstärken und so die Versuchsdauer abzukürzen, wurden Proben der Eiweißlösung in flachen Schälchen, die in einem Wasser enthaltenden Gefäße standen und mit einer durchsichtigen Quarzplatte bedeckt waren, in 20 cm Distanz vom Brenner von oben her bestrahlt. Eine Probe, welche in dieser Weise ununterbrochen durch 1½ Stunden der Wirkung der Quarzlampe ausgesetzt worden war, zeigte nachher praktisch vollständige Koagulation. Wurde eine zweite Probe an drei verschiedenen Tagen je eine halbe Stunde in gleicher Weise bestrahlt, so war das Ergebnis das gleiche.

Eine Berücksichtigung der verzögerten Wirkung im Sinne von *Stedman* und *Mendel* ist somit bei der vorliegenden, ausschließlich qualitativen Untersuchungen angepaßten Versuchsanordnung nicht notwendig.

Als Ergebnis dieser Experimente zeigt sich, daß elektrolytfreies Seralbumin, ähnlich wie die von anderen Autoren verwendeten, mehr oder minder gereinigten Präparate durch kurzwelliges Licht zur Ausfällung gebracht wird[3]). Elektrolytzusätze, wie sie *Schanz* bei einem dialysierten, beim Erhitzen nicht fällbaren Eialbumin verwendet, sind hierzu nicht erforderlich, ebensowenig isoelektrische Reaktion des Albumins, wie es etwa *Clark* postuliert. Dieses Verhalten steht in voller Analogie zu den in den „Hitzeveränderungen des Albumins" festgestellten Tatsachen, nach welchen das gleiche Produkt beim Sieden vollständig koaguliert. Auf das Zusammenfallen des Koagulationsbereiches und der Art der Koagulation des bestrahlten und erhitzten

[1]) Die Eignung der hier gewählten Eiweißkonzentration geht eindeutig aus neuesten, noch unveröffentlichten ultraspektrographischen Untersuchungen gemeinsam mit *O. Krumpel* hervor.

[2]) Alle wiedergegebenen Versuche wurden mindestens einmal mit gleichem Ergebnis reproduziert.

[3]) Ähnliche Ergebnisse konnten auch am elektrodialytisch gereinigten Linseneiweiß erzielt werden, über die an anderer Stelle berichtet wird.

Ovalbumins im isoelektrischen Bereich hat *Clark* bereits hingewiesen. Bei dieser weitgehenden Übereinstimmung erschien es um so naheliegender, die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Lichtkoagulats mit denjenigen des durch Hitzeeinwirkung erzeugten zu vergleichen. Von dem Hitzekoagulat war gezeigt worden, daß bei Behandlung mit einer zur Lösung des letzteren nicht völlig hinreichenden Menge n/100 NaOH eine völlig klare Flüssigkeit entsteht; deren Laugengehalt kann elektrodialytisch vollständig beseitigt werden, wobei das gesamte Protein wasserlöslich bleibt und sich weder in physiko-chemischer noch in biologischer Beziehung vom genuinen Albumin unterscheiden läßt. Ein ähnlicher Versuch wurde daher auch mit dem Lichtkoagulat angestellt.

Versuchsbeispiel 3. Das auf die oben beschriebene Weise erhaltene Lichtkoagulat wurde mit Wasser gewaschen und teilweise mit einer verdünnten NaOH gelöst, so daß quantitativ das Verhältnis Protein : Lauge genau demjenigen entsprach, bei welchem das in Natronlauge gelöste, hitzegefällte Albumin restlos in lösliches Protein überführt werden konnte. Die Lösung des lichtgefällten Albumins nach Filtrieren war deutlich opaleszent; bei der Elektrodialyse, die mit dem gleichen Apparat und derselben Versuchsanordnung wie die Versuche am hitzeveränderten Albumin ausgeführt werden konnte, fiel das Protein praktisch quantitativ aus.

Das Ergebnis dieses Versuchs läßt sich dahin zusammenfassen, daß im Gegensatz zum Verhalten des Hitzekoagulats verdünnte Natronlauge (und wie später noch gezeigt werden wird, auch andere, die Reversibilität des hitzegefällten Albumins bewirkende Zusätze) nicht imstande sind, die durch die Lichteinwirkung gesetzten Veränderungen aufzuheben. Diese Befunde sind nur in scheinbarem Gegensatz zu den einleitend erwähnten Befunden von *Schanz*, welcher aus der Alkalilöslichkeit des Lichtkoagulats auf dessen Reversibilität geschlossen hatte, ohne das Verhalten des letzteren nach Beseitigung des Alkalizusatzes zu berücksichtigen.

Die Tatsache, daß das Lichtkoagulat sich unter gleichen Bedingungen verschieden verhält wie das Hitzekoagulat, legt wohl die Auffassung nahe, daß es ein von dem Ergebnis der Hitzefällung verschiedenes Produkt darstellt. Jedoch muß betont werden, daß diese Feststellung sich ausschließlich auf Koagulate bezieht, die unter den angegebenen Versuchsbedingungen zur Fällung gebracht worden sind. Es kann hier nicht entschieden werden, ob die Differenzen nur quantitativ sind oder ob denselben qualitative Verschiedenheiten der modifizierten Eiweißmoleküle zugrunde liegen.

Bezüglich der ersteren Annahme läßt sich nur darauf hinweisen, daß bei der Bestrahlung eine Anordnung getroffen wurde, bei welcher noch gerade vollständige Eiweißfällung eintritt, während beim Erhitzen der Versuch so geleitet wurde, daß nach den Ergebnissen von *M.* und

S. P. L. Sörensen[1]) die längst mögliche Einwirkungszeit verwendet wurde, bei der gerade noch ein sekundärer Abbau des Hitzekoagulats vermieden werden konnte. Diese Verschiedenheiten der freilich nicht streng vergleichbaren Versuchsbedingungen ließen also eher ein umgekehrtes Verhalten der beiden Koagulate erwarten.

Anhaltspunkte für die Annahme einer qualitativen Veränderung liegen allerdings vor. So deutet schon der intensive Geruch, den bestrahltes Eiweiß annimmt, und den alle Autoren, mit Ausnahme von *Mond*[2]) (bei kristallisiertem Seralbumin), wahrgenommen haben, auf stattfindende tiefergehende chemische Umsetzungen. Es werden z. B. nach *Neuberg*[3]) Peptone und Proteine in Gegenwart metallischer Katalysatoren durch Belichtung zunächst hydrolysiert und dann desaminiert. Auch *Pincussen*[4]) konnte für Aminosäuren und Eiweißkörper nachweisen, daß diese bei Belichtung in Gegenwart von Eosin eine Änderung ihrer optischen Drehung und eine Abspaltung von NH_3 zeigen. Auf die Bildung von Kohlensäure und Ammoniak bei der Photooxydation des Serums weist auch *Gaffron*[5]) hin. Schließlich hat *Harris*[6]) zeigen können, daß Serum oder Plasma bei Einwirkung von Ultraviolettbestrahlung (Quarz-Hg-Dampflampe) Sauerstoff aufnimmt. Es scheinen daher chemische Veränderungen im Sinne einer Oxydation bei der Bestrahlung von Proteinen mit ultraviolettem Lichte in sauerstoffhaltigem Medium stattzufinden. Es soll weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, festzustellen, ob entsprechend neuesten Befunden von *Samec*[7]) an der Stärke auch Eiweißkörper bei Ultraviolettbestrahlung in Sauerstoffabwesenheit eine Peptisation erfahren, zu welcher dann bei Zutritt von Oxyden noch Oxydations- und Hydrolysevorgänge kommen.

Nicht außer acht gelassen soll der immerhin mögliche Einwand werden, das verschiedene Verhalten der beiden Koagulate beruhe auf dem Umstande, daß die Ultraviolettbestrahlung allein die Lipoide des Serums besonders verändere [was nach den modernen Kenntnissen über die Modifikationen, die Cholesterin[8]) durch ultraviolettes Licht erfährt, naheliegend erscheint] und so die relative Schwerlöslichkeit des Koagulats bedinge. Abgesehen davon, daß nur Löslichkeitsbeein-

[1]) *M.* und *S. P. L. Sörensen*, C. r. d. trav. d. Lab. Carlsberg **15**, 1, 1925.
[2]) *R. Mond*, Pflügers Arch. **200**, 374, 1923.
[3]) *C. Neuberg*, diese Zeitschr. **13**, 305, 1908; **29**, 279, 1910.
[4]) *L. Pincussen*, Biologische Lichtwirkungen. Ergebn. d. Physiol. 19. 145, 1921.
[5]) *H. Gaffron*, diese Zeitschr. **179**, 157, 1926.
[6]) *D. T. Harris*, Biochem. Journ. **20**, 280, 1926.
[7]) *M. Samec*, Kolloidchem. Beih. **23**, 377, 1927.
[8]) Vgl. z. B. *A. F. Hess*, *M. Weinstock* und *F. D. Helmann*, Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. **22**, 227, 1925.

flussungen von Globulinen[1]), nicht aber solche von Albumin, durch Lipoide bekannt sind, so sind nicht einmal diese ersteren Beziehungen unbestritten[2]) geblieben. Schließlich muß darauf verwiesen werden, daß nach Untersuchungen von *Frankenthal*[3]) bei durch Elektrodialyse ebenso wie bei durch Fraktionierung hergestelltem Seralbumin der Gesamtcholesteringehalt in der Globulinfraktion enthalten ist. Es erscheint somit nicht wahrscheinlich, daß die Verschiedenheiten des Hitze- und Lichtkoagulats ausschließlich auf differentes Verhalten der denselben anhaftenden Lipoide zurückzuführen ist.

Untersuchungen über Veränderungen, die Seralbumin bei Bestrahlung in Gegenwart verschiedener Säuren- und Laugenzusätze erfährt, liegen meist in der Literatur als Angaben über das Verhalten eines so behandelten Proteins bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration vor. Zwecks Erzielung von mit den früheren Versuchen[4]) vergleichbaren Angaben soll uns hier auch nur das Verhalten von in früheren Untersuchungen der *Pauli*schen Schule physikalisch-chemisch genügend charakterisierten Verbindungen des Seralbumins mit Säuren und Laugen unter Einwirkung von ultraviolettem Lichte beschäftigen.

Versuchsbeispiel 4. Es wurde zunächst Seralbumin mit Mengen HCl versetzt, welche erfahrungsgemäß noch nahezu vollständig gebunden werden, entsprechend 1 und 2 g Protein auf $1 \cdot 10^{-3}$ Äquivalent Salzsäure. Als Bestrahlungsdauer wurde diejenige Zeit gewählt, die bei der Beobachtung der gleichen Versuchsanordnung gerade zur vollständigen Koagulation des elektrolytfreien Seralbumins genügt hatte. Die beiden Röhrchen blieben vollständig klar. Wurden dann die bestrahlten Flüssigkeiten der Elektrodialyse unterzogen, so fiel das Seralbumin praktisch quantitativ aus.

Ein *Kontrollversuch* zeigte, daß diese Prozedur das mit der gleichen Säuremenge versetzte, genuine Protein unverändert läßt.

Dieser Versuch zeigt, daß in Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Autoren, so *Mond*, *Clark* usw., Seralbumin bei saurer Reaktion keine sichtbaren Veränderungen unter Einwirkung der Quarzlampe erfährt. Dieses Verhalten ist in voller Analogie mit demjenigen des Proteins beim Gekochtwerden unter den gleichen Bedingungen. Nach Beseitigung des Elektrolyten zeigt sich jedoch, daß dieses Phänomen in den beiden Fällen auf verschiedenen Ursachen beruht. Während unter vergleichbaren Bedingungen der größere Teil des gekochten Seralbumins (bis 92%) keine nachweisbaren Veränderungen erfährt, ist das gesamte bestrahlte Protein wasserunlöslich geworden.

[1]) *H. Chick*, Biochem. Journ. **8**, Nr. 4, 1914.
[2]) *L. F. Hewitt*, ebendaselbst **21**, 216, 1927.
[3]) *K. Frankenthal*, Zeitschr. f. Immunitätsf. **42**, 501, 1925.
[4]) *M. Spiegel-Adolf*, l. c.

Diese Verschiedenheiten im Verhalten der Lösungen von Eiweiß-Salzsäureverbindungen beim Erhitzen und Bestrahlen ließen auch solche bei der Reaktion mit Neutralsalz erwarten. Entgegen der früher gangbaren Ansicht, daß durch Salzzusatz die in jedem Falle beim Erhitzen von sauren oder alkalischen Eiweißlösungen stattfindende Denaturierung erst manifest werde, wurde in früheren Untersuchungen[1]) gezeigt, daß der Salzzusatz nur wirksam wird, falls er vor dem Erhitzen erfolgt und nicht, wenn der Zusatz zu der erhitzten und abgekühlten Flüssigkeit hinzugefügt wird. Dieses Verhalten wird auch dann beobachtet, wenn die Eiweißlösung nach dem Erhitzen wasserunlöslich gewordenes Protein enthält. Wie verhält sich diesbezüglich bestrahltes Albumin?

Versuchsbeispiel 5. Eine Probe Albumin + Salzsäure mit Kaliumchlorid versetzt, läßt Koagulation bei Erhitzen und Bestrahlen erkennen. Es tritt alsbald Trübung und Flockung auf. Das gleiche Phänomen läßt sich aber auch nachweisen, wenn man KCl (Endkonzentration von 0,2 n aufwärts, bei einer Endnormalität von 0,002 HCl) zu einer klaren, durch 5 Stunden 25 Minuten bestrahlt gewesenen Albumin-HCl-Lösung zusetzt.

Aus diesem Versuch geht demnach hervor, daß Salzzusatz zu Albuminchlorid vor der jeweiligen Einwirkung zwar scheinbar den gleichen Einfluß bei erhitztem und bestrahltem Seralbumin besitzt, hingegen zeigt die verschiedene Reaktion auf den nach der Bestrahlung bzw. nach dem Erhitzen zugefügten Salzzusatz, daß die Löslichkeitsbedingungen der verschieden behandelten Albuminproben sich geändert haben.

In ähnlicher Weise wie beim Säurealbumin wurde die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Laugenalbumin untersucht.

Versuchsbeispiel 6. Für die Laugenalbuminlösung wird ein Verhältnis von 1 g Albumin auf $1 \cdot 10^{-3}$ NaOH gewählt. Die Lösung weist mit Ausnahme des charakteristischen Geruchs nach 5 Stunden 25 Minuten dauernder Bestrahlung keine äußere Veränderung auf. Nach Elektrodialyse fällt das Eiweiß praktisch quantitativ aus. Auch hier blieb in *Kontrollversuchen* das in Laugengegenwart elektrodialysierte genuine Eiweiß wasserlöslich.

Im Gegensatz zum Säurealbumin zeigt das Verhalten des Laugenalbumins beim Bestrahlen und Erhitzen insofern eine weitgehende Übereinstimmung, als in beiden Fällen wasserunlösliche Produkte entstehen, zu deren Lösung die Menge der vorhandenen Lauge genügt. Diese Übereinstimmung erstreckt sich auch auf die Reaktion mit Neutralsalz.

Versuchsbeispiel 7. Neutralsalz in Konzentrationen von 0,05 bis 1,0 n vor der Bestrahlung von Seralbumin in alkalischer Lösung (Endnormalität 0,002 n) zugesetzt, bewirkt nachherige Trübung und

[1]) *M. Spiegel-Adolf*, l. c.

Flockung. Der Salzzusatz bei alkalischer Reaktion ist jedoch ohne sichtbaren Einfluß auf die bereits bestrahlte Probe.

Von besonderem Interesse für die hier diskutierten Probleme erschien eine Prüfung des Verhaltens des Albumins bei Zusätzen von Neutralsalzen, Salzen mit mehrwertigen und asymmetrisch gebauten, komplexen Ionen. Bei der Untersuchung der Wirkung von Neutralsalzen (KCl) auf die Lichtkoagulation des Seralbumins wurden außer dem direkten Vergleich mit dem Verhalten des Albumins beim Erhitzen noch die Ergebnisse der Radiumwirkung auf Eiweißkörper berücksichtigt. Untersuchungen von *Fernau* und *Pauli*[1]) und von *Fernau*[2]) haben gezeigt, daß der Gegenwart von Neutralsalz in der oben erwähnten Konzentration eine hemmende Wirkung der Eiweißflockung durch Radiumbestrahlung zukommt. Neueste Untersuchungen mit Hilfe des Ultramikroskops von *A. Fernau* und *M. Spiegel-Adolf*[3]) konnten dies bestätigen. Der Vergleich zwischen der Wirkung der Radium- und der Ultraviolettbestrahlung auf Protein, die einer eigenen Mitteilung vorbehalten wird, ist durch die Auffassung von *Clark* nahegelegt worden, nach welcher die durch Ultraviolettbestrahlung bedingte Denaturierung auf eine Ladungsänderung durch Elektronenverlust zurückgeführt wird.

Versuchsbeispiel 8. Seralbumin wird in Gegenwart von KCl (Endkonzentration 0,1 bis 0,5 n) in der üblichen Weise bestrahlt; es tritt in kurzer Zeit Trübung und Flockung auf.

Daraus läßt sich entnehmen, daß wie bei der Hitzeeinwirkung und im Gegensatz zu der Radiumbestrahlung auch bei der Ultraviolettbelichtung Neutralsalzgegenwart nicht genügt, um die Fällung des Proteins zu verhindern.

Schon in einer Untersuchung am Globulin[4]) konnte ich seinerzeit feststellen, daß Lösungen dieses Proteins in $AlCl_3$ und Na_3-Citrat sich beim Erhitzen wie Säure- und Laugenglobulin verhielten. Noch unveröffentlichte Untersuchungen am Seralbumin lassen erkennen, daß die sichtbaren Veränderungen des letzteren beim Erhitzen in Gegenwart von $AlCl_3$ durch Konzentrationen bereits gehemmt werden, die ungefähr derjenigen einer in diesem Sinne wirksamen HCl entsprechen. Nach Dialyse ist kein hitzekoagulables Eiweiß mehr nachweisbar. Na_3-Citrat hingegen hemmt wohl in relativ niedrigeren Konzentrationen bis 0,1 n; bei 0,5 Endnormalität tritt aber beim Kochen in der früher vollkommen klaren Lösung deutliche Opaleszenz auf.

---

[1]) *A Fernau* und *Wo. Pauli*, Kolloid-Zeitschr. **30**, 6, 1922.
[2]) *A. Fernau*, l. c.
[3]) Im Druck. Erscheint in der Klin. Wochenschr.
[4]) *M. Adolf*, Kolloidchem. Beih. **20**, 138, 1924.

Versuchsbeispiel 9. Eiweiß bei einer $AlCl_3$-Konzentration von 0,5 n bestrahlt, zeigt keine sichtbare Veränderung. Nach Dialyse ist ein Teil des Albumins noch hitzegerinnbar. Bei einer Na_3-Citratkonzentration von n/10 tritt schon nach einer einstündigen Bestrahlung Trübung ein. Hingegen wird eine solche trotz 5 Stunden 25 Minuten langer Bestrahlung bei Verwendung höherer Salzkonzentrationen (0,5 n) vermißt.

Das bestrahlte Protein erweist sich nach dialytischer Beseitigung des Salzzusatzes als denaturiert.

Wie aus diesen Versuchen hervorgeht, scheinen auch Salze mit dreiwertigen Ionen die Veränderungen des Proteins beim Erhitzen und bei Bestrahlung in verschiedenem Sinne zu beeinflussen.

Auf die Sonderstellung, die den Rhodanverbindungen in bezug auf Eiweiß und besonders auf dessen Hitzeveränderlichkeit gegenüber anderen Neutralsalzen zukommt, hat *Pauli*[1]) schon vor vielen Jahren verwiesen und für dieses, auch von anderen Autoren bestätigte Verhalten eine Erklärung[2]) versucht. Danach würden die Besonderheiten im Verhalten des Rhodansalzes auf dem asymmetrischen Aufbau seines komplexen Anions beruhen. In jüngster Zeit hat nun *Willheim*[3]) den Nachweis erbracht, daß nebst anderen Salzen das Rhodankalium die Fähigkeit besitzt, in Siedehitze hitzegefälltes Eiweiß zu lösen, welches dann nach dialytischer Beseitigung des Neutralsalzes Alkohol- und Hitzefällbarkeit wieder aufweist. Nachdem zunächst in eigenen Versuchen an dem hier verwendeten Eiweißmaterial bei einer Salzendkonzentration von etwa 5 n die Befunde von *Willheim* unter Verwendung der Elektrodialyse bestätigt werden konnten, wurde der Einfluß des Rhodankaliums auf das zu bestrahlende Eiweiß untersucht.

Versuchsbeispiel 10. Seralbumin wurde, mit gleichen Teilen gesättigter Rhodankaliumlösung versetzt, der Bestrahlung unterworfen. Schon nach wenigen Minuten tritt Trübung und Flockung auf.

Im Gegensatz zur Wirkungsweise des Rhodankaliums gegenüber Seralbumin beim Erhitzen vermag bei Belichtung dieses Salz weder das Entstehen eines Fällungsprodukts zu verhindern, noch dasselbe bei fortgesetzter Bestrahlung, entsprechend dem von *Willheim* angegebenen erneuten Aufkochen nach Salzzusatz, aufzulösen.

Aus der Gesamtheit der hier vorliegenden Versuche, die in der beigefügten Tabelle zusammengestellt sind, läßt sich folgendes feststellen: Die durch Lichteinwirkung hervorgerufene Fällung des Seralbumins kann durch diejenigen Mittel, welche das analoge Produkt der Hitzeeinwirkung im Sinne einer Reversibilität beeinflussen, nicht

[1]) *Wo. Pauli*, Hofmeisters Beitr. **9**, 415, 1908.

[2]) *Derselbe*, Eiweißkörper und Kolloide, zwei Vorträge. Julius Springer, 1926.

[3]) *R. Willheim*, diese Zeitschr. **180**, 231, 1927.

Tabelle I.

Verhalten des Seralbumins bei:

Zusatz	Sichtbare Veränderung	Eigenschaften des elektrodialysierten Koagulats	Salzeinwirkung	
			ante	post
Bestrahlen				
O	Flockung	Löslich in NaOH, wasserunlöslich nach elektrodialytischer Beseitigung der Lauge	—	—
HCl	θ	Wasserunlöslich	Flockung	Flockung
NaOH	θ	"	"	θ
KCl	Flockung	—	—	—
$AlCl_3$	θ	Unlöslich neben wasserlöslichem Eiweiß	—	—
Na_3-Zitrat 0,1 n	Trübung		—	—
Na_3-Zitrat 0,5 n	θ	Unlöslich	—	—
KCNS	Flockung	Wasserunlöslich	—	—
Erhitzen				
O	Flockung	Löslich in NaOH, wasserlöslich nach elektrodialytischer Beseitigung der Lauge	—	—
HCl	θ	92% wasserlöslich	Flockung	θ
NaOH	θ	Wasserunlöslich	"	θ
KCl	Flockung	—	—	—
$AlCl_3$	θ	Wasserunlöslich	—	—
Na_3-Zitrat 0,1 n	θ	—	—	—
Na_3-Zitrat 0,5 n	Trübung	—	—	—
KCNS	θ	Wasserlöslich	—	—

in der gleichen Weise modifiziert werden. Lichtveränderung des Proteins tritt zum Unterschied seines Verhaltens beim Erhitzen trotz Gegenwart von Säuren und Salzen mit komplexen Ionen, aber auch bei Zusätzen von Lauge, Neutralsalzen und solchen mit mehrwertigen Ionen ein. Der Ionisationszustand oder ein bestimmter Ladungssinn scheinen somit in Übereinstimmung mit den Befunden von *Nordensen*[1]) an anorganischen Kolloiden keine Rolle bei der Lichtdenaturierbarkeit zu spielen. Es bestehen Unterschiede in der Salzfällbarkeit des unter vergleichbaren Verhältnissen erhitzten und belichteten Seralbumins. Führen wir somit in Anlehnung an *Bovie*[2]) eine Unterteilung der Lichteinwirkung in Denaturierung und nachträgliche Koagulation durch, so kommen wir auf Grund ausschließlich physiko-chemischer Versuchs-

[1]) *H. Nordensen*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **90**, 603, 1915.
[2]) *W. T. Bovie*, Science **37**, 373, 1913.

ergebnisse zu dem Resultat, daß unter bestimmten Versuchsbedingungen die am Seralbumin durch Ultravioletteinwirkung hervorgerufenen Veränderungen von denjenigen, welche das Erhitzen bedingt, verschieden sind. Diese Verschiedenheiten scheinen zunächst eine erhöhte Unlöslichkeit des bestrahlten Seralbumins zu bedingen. Es soll zwar hier noch nicht versucht werden, nur auf Grund physikochemischer Befunde Schlüsse auf die chemischen Veränderungen selbst zu ziehen, die das Proteinmolekül bei der Belichtung erfährt, sondern nur darauf verwiesen werden, daß beim bestrahlten Seralbumin alle jene Momente fehlen, auf Grund welcher die Hitzeveränderungen im wesentlichen als durch Ringschluß endständiger Gruppen bedingt gedeutet worden sind. Bei der hier nachgewiesenen Verschiedenheit des erhitzten und bestrahlten Seralbumins erscheint es begreiflich, daß dasselbe durch anwesende Elektrolyte verschieden beeinflußt wird, so daß sichtbare Koagulation nicht immer unter gleichen Versuchsbedingungen eintritt.

Die Verschiedenheiten in den Entstehungsbedingungen und den Eigenschaften der Hitze- und Lichtkoagulate bei den in vitro vorgenommenen Versuchen lassen es jedenfalls wahrscheinlich erscheinen, daß diese auch unter komplizierteren, biologischen Versuchsbedingungen bestehen. Danach müßte Vergleichen der Hitze- und Lichteinwirkung, wie z. B. der von *Azuma*[1]) vorgenommenen Analogisierung eines Lichtrigors des bestrahlten Skelettmuskels mit der Wärmestarre eine gewisse Vorsicht entgegengebracht werden.

Zusammenfassung.

1. In der vorliegenden Untersuchung wird das Verhalten von Seralbumin in elektrolytfreiem Zustande und in Gegenwart von Säure, Lauge und verschiedenartiger Salze unter dem Einfluß von ultravioletten Strahlen festgestellt und mit den Erscheinungen bei Hitzeeinwirkung unter entsprechenden Bedingungen verglichen. Ferner werden einzelne Eigenschaften der dabei entstehenden Koagulate gegenübergestellt.

2. Elektrolytfreies Seralbumin koaguliert bei Einwirkung von ultraviolettem Lichte wie beim Erhitzen.

3. Das Koagulat läßt sich durch Behandlung mit Natronlauge und nachfolgender Dialyse nicht wie das Hitzekoagulat in ein wasserlösliches Produkt überführen.

4. Bei Gegenwart von Säure und Lauge wird Seralbumin durch Bestrahlung auch unter Bedingungen verändert, bei welchen es, der

[1]) *V. Azuma*, Proc. of the Roy. Soc., Ser. B, **101**, 24, 1927.

Hitzeeinwirkung ausgesetzt, zum größten Teile der Veränderung entgeht.

5. Im Gegensatz zum hitzeveränderten wird in HCl-Gegenwart bestrahltes Seralbumin auch durch nachträglichen Salzzusatz zur Ausfällung gebracht. Hingegen zeigen in NaOH-Gegenwart erhitztes und bestrahltes Protein gegenüber Neutralsalzen ein ähnliches Verhalten.

6. Neutralsalzzusatz verhindert auch in höheren Konzentrationen nicht das Ausfallen des Seralbumins bei Bestrahlung; die Ausflockung wird durch Gegenwart von Salzen mit mehrwertigen Ionen gehemmt. Hingegen vermag Rhodankalium im Gegensatz zu seiner Beeinflussung der Hitzeeinwirkung weder die Lichtfällung zu verhindern, noch das Koagulat in Lösung zu bringen.

Die hier vorläufig mitgeteilten Untersuchungen werden in verschiedenen Richtungen fortgesetzt.

Über die Beeinflussung der Strahlen- und Wasserhämolyse durch Arsen.

Von

L. Löhner.

(Aus dem Schweizerischen Institut für Hochgebirgsphysiologie und Tuberkuloseforschung in Davos und dem Physiologischen Institut der Universität Graz.)

(Eingegangen am 11. April 1927.)

I.

Es hieße heute wohl einen Gemeinplatz breittreten, wenn man näher darauf eingehen würde, wie die durch verschiedenartige Agenzien veranlaßten Hämolysen ihrem Mechanismus nach ebenso vielseitig ablaufen, als sie sich in ihrem Endeffekt gleichen. Die zum Austritt des Blutfarbstoffs führenden, zweifellos mannigfaltigen Mechanismen waren und sind nur zum Teil der direkten experimentellen Untersuchung und Beobachtung zugänglich; in überwiegender Weise wurden die entsprechenden Vorstellungen auf indirekten Wegen gewonnen und erschlossen.

Dem Mechanismus nach werden heute gewöhnlich folgende Hämolysearten unterschieden, um in Kürze ein paar orientierende Hinweise über die geläufigsten Vorstellungen in dieser Hinsicht zu geben: der Hämoglobinaustritt nach mechanischer Verletzung und Zertrümmerung der Wand (Verreiben mit Sand usw.), durch osmotische Wandüberspannung und Quellung [hypotone Außenmedien; vermutlich auf diese Weise (Wasserwirkung) auch durch Gefrieren und Auftauen], durch Schmelzen von Wandbestandteilen (Wärmewirkung auf Fett- und Lipoidstoffe), durch Lösung und Extraktion von Wandbestandteilen (Alkohol-, Äther-, Aceton , Chloroformwirkung usw. auf Fett- und Lipoidstoffe), durch H- und OH-Ionenwirkung auf Wandbestandteile [Säuren- und Basenwirkung, vermutlich durch katalytische Spaltung der fettähnlichen Substanzen (H-Wirkung) und Verseifung (OH-Wirkung)], durch spezifisch-elektrische Wandveränderungen (Kondensatorentladungen; abgesehen von elektrischen Wärme- und Elektrolysewirkungen), durch Strahlungsenergie-Wandbeeinflussung (Licht-,

Ultraviolett-, Röntgen- und Radiumstrahlen) und schließlich durch verschiedenartig spezifische Wandveränderungen infolge der Einwirkung von Blutgiften und Hämolysinen. Im einzelnen gibt es hier noch viel Hypothetisches und Ungeklärtes.

Im Zusammenhang mit den Mechanismusproblemen hat auch die wechselnde Erythrocyten-Widerstandskraft oder -Resistenz gegen hämolysierende Agenzien viel Beachtung gefunden. Sowohl die Widerstandskraft der Blutkörperchen verschiedener Tierarten gegen ein und dasselbe Agens, wie die einer Art gegen verschiedene Agenzien kann bekanntlich große Unterschiede zeigen. In ersterer Beziehung sei z. B. auf den durch *Rywosch*[1]) nachgewiesenen, artbedingten Antagonismus zwischen Saponin- und Wasserresistenz verwiesen. Von Bedeutung sind ferner die individuellen Resistenzunterschiede gegen ein bestimmtes Agens und die individuelle Resistenzbreite gegen ein solches; es zeigt sich nämlich, daß zwischen den gegenüber einem bestimmten Agens am meisten und am wenigsten resistenten Erythrocyten eines Individuums ein beträchtlicher Abstand besteht. *Lang*[2]) fand z. B. bei Untersuchungen über Hypotoniehämolyse den verschiedenen Resistenzgradabstufungen entsprechenden Hämolyseeintritt im Intervall zwischen 0,3- und 0,6% NaCl-Lösungen.

II.

Resistenzgradänderungen nach beiden Richtungen hin können unter bestimmten Bedingungen eintreten und sind zum Teil auch experimentell zu erzielen.

Die photobiologische Sensibilisation läßt sich in gewissem Sinne als eine Resistenzminderung gegenüber strahlender Energie auffassen. Zeigt die fast überreiche Literaturproduktion der letzten Jahre über Lichtsensibilisierung und Sensibilisatoren, wie eingehend man sich mit diesen Fragen beschäftigt hat, so fällt um so mehr auf, wie spärlich bisher die Forschungstätigkeit nach der entgegengesetzten Seite hin gewesen ist. Die wenigen Arbeiten, die in dieser Richtung erschienen sind, befassen sich ausschließlich mit einer photobiologischen Desensibilisation in dem Sinne, den Erfolg einer vorausgegangenen, durch Sensibilisatoren erzeugten Sensibilisierung wieder rückgängig zu machen, also zu mindern oder aufzuheben[3]). Untersuchungen, die auf eine Resistenzsteigerung unvorbehandelter, nichtsensibilisierter

[1]) *D. Rywosch*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **116**, 229 bis 251, 1907; **157**, 587 bis 601, 1914; Zentralbl. f. Physiol. **25**, 848 bis 851, 1911; **28**, 57 bis 59, 1914.

[2]) *M. Lang*, Zeitschr. f. klin. Med. **47**, 153, 1902.

[3]) Vgl. hierzu Literaturangaben bei *W. Hausmann* und *L. Löhner*, diese Zeitschr. **173**, 7 bis 13, 1926.

Erythrocyten gegen Strahlenhämolyse abzielen, liegen meines Wissens nicht vor.

Wohl aber ist durch *Gunn*[1]) eine solche Resistenzsteigerung gegen andere Hämolysearten bekanntgemacht worden. Er zeigte in einer 1908 erschienenen Arbeit, daß Arsenverbindungen, speziell Arsentrioxyd (Arsenious acid), die Erythrocytenresistenz gegen Wasserhämolyse, in einer zweiten, 1911 zusammen mit *Feltham*[2]) veröffentlichten Mitteilung, daß sie sie auch gegen Saponinhämolyse (Cyclamin) und gegen Gallenhämolyse (Sodium glycocholate) erhöhen. Die Durchführung der *Gunn*schen Grundversuche läßt sich in folgender tabellenmäßiger Darstellung am raschesten wiedergeben.

Tabelle I.

Röhrchen	4% Erythrocytensuspension in 0,85% NaCl-Lösung ccm	0,02% Lösung von As_2O_3 in 0,85% NaCl-Lösung ccm	0,85% NaCl-Lösung ccm	H_2O-Zusatz nach 1 Std. ccm	Hämolysebefund sofort	Flüssigkeitssäule über Bodensatz nach 15 Std.
1	0,5	0,5	—	1,0	schwach	leicht gefärbt
2	0,5	—	0,5	1,0	stark	stark gefärbt
3	0,5	—	1,5	—	fehlend	farblos

Bei diesen Versuchen handelte es sich also um — bezogen auf die Gesamtflüssigkeitsmenge — 1% Erythrocytensuspensionen, für die der menschlichen Fingerbeere entnommenes, frisches Blut Verwendung fand. Der Wasserhämolyseeffekt wurde aus der sofortigen stärkeren oder schwächeren Aufhellung (Lackfarbigwerden) der Probe und aus dem Färbungsgrad der Flüssigkeitssäule nach Absetzen des Bodensatzes bei Vergleich mit Kochsalzkontrollen (Röhrchen Nr. 3) erschlossen. Eine Vorbehandlung der Erythrocyten mit einer (nach Zusammenbringen der Komponenten) 0,01% Arsentrioxydlösung verursachte eine unverkennbare partielle Hämolysehemmung, erhöhte also die Resistenz gegen Wasserhämolyse. *Gunn* konnte in weiteren Versuchen noch die Feststellungen machen, daß diese Resistenzsteigerung durch Arsenbehandlung fast sofort eintritt und keine längere Vorbehandlungsdauer erfordert, daß Arsentrioxydverdünnungen bis zum Grenzwert von etwa 1 : 400000 sich wirksam erweisen und daß das Blutplasma oder Serum bei diesen Vorgängen keine Rolle spielt, da „gewaschene" und „ungewaschene" Blutkörperchen sich ganz gleich verhalten. Die Resistenzerhöhung scheint durch eine augenblicklich erfolgende Bindung oder Adsorption des Arsens an die Körperchensubstanz zu erfolgen und bleibt durch nachträgliche Waschungen mit Kochsalzlösung unbeeinflußt. Gleiche Ergebnisse wie mit Arsenik

[1]) *J. A. Gunn*, Brit. Med. Journ. 1908, II, S. 145 bis 147.
[2]) *J. A. Gunn* and *W. J. Feltham*, ebendaselbst 1911, I, S. 134 und 135.

(Arsenious acid) ließen sich in dieser Hinsicht auch mit anderen Arsenverbindungen (Sodium arsenite und Sodium arsenate) erzielen.

Die *Gunn*schen Befunde konnten durch *Strasser* und *Neumann*[1]) bestätigt werden, die den Hämolyseeintritt bei Eintragen von Blut in eine Röhrenreihe mit fallenden NaCl-Konzentrationen mit und ohne Zusatz kleinster Mengen arseniger Säure (1 : 500000) untersuchten. Bei Arsenzusatz verschob sich der Hämolyseeintritt in der Richtung der verdünnteren Lösungen um einige hundertstel Prozent; es war also eine Resistenzsteigerung eingetreten.

Die genannten Forscher konnten eine ähnliche Beeinflussung des Blutes aber auch in vivo bei Arsenmedikation feststellen. Die Isotoniewerte der Erythrocyten fielen nach Arsenbehandlung sichtlich und bedeutend, „was, auf die Resistenzfähigkeit der Blutzellen übertragen, ein Anwachsen dieser ihrer Eigenschaft bedeutet". Bei Versuchen, die zu dem Zwecke angestellt worden waren, „den Gang der Isotonie und des Hämoglobingehalts nebeneinander zu verfolgen", ergaben sich die Tatsachen, daß unter Arsenmedikation (intramuskuläre Injektionen von Natr. kakodylicum; per os-Verabreichung von Solut. Arsen. Fowleri) die Isotoniewerte auch dann sanken, wenn der Hämoglobingehalt anstieg. *Strasser* und *Neumann* folgern aus den von ihnen erhobenen Befunden, daß das Arsen eine wahre Steigerung der protoplasmatischen Resistenz der Blutzellen bewirkt.

Anknüpfend an diese Beobachtungen und mit Bezugnahme auf die früher gegebenen Hinweise über Strahlenhämolyse und das Fehlen jedweder Erfahrungen über eine diesbezügliche primäre Resistenzsteigerung erschien es mir wünschenswert, Arsenvorbehandlungsversuche zu diesem Zwecke heranzuziehen.

III.

Die hämolysierende Wirkung der kurzwelligen Strahlung künstlicher Lichtquellen auf nicht vorbehandelte Erythrocyten wurde zuerst 1906 von *Schmidt-Nielsen*[2]) und *Busck*[3]) (konzentriertes Kohlenbogen-Finsenlicht), später von *Dreyer* und *Hansen*[4]) (Banglampe mit abgekühlten Silberelektroden), *Hasselbalch*[5]) (*Kromayers* Quarz-Quecksilberlampe) und anderen festgestellt und studiert. Daß aber auch eine Strahlenhämolyse nichtsensibilisierter Erythrocyten durch Sonnen-

[1]) *A. Strasser* und *F. Neumann*, Med. Klinik, Jahrg. 1909, Nr. 34, S. 1 bis 10.

[2]) *S. Schmidt-Nielsen*, Mitt. d. Finsens Med. Lichtinstituts **10**, 1906; Nyt Magazin for Naturvidenskab 1909.

[3]) *G. Busck*, diese Zeitschr. **1**, 425, 1906.

[4]) *G. Dreyer* et *O. Hansen*, C. r. Acad. Paris **145**, 1907.

[5]) *K. A. Hasselbalch*, diese Zeitschr. **19**, 435 bis 493, 1909.

bestrahlung im Höhenklima zustande kommen kann, wurde erst 1926 durch *Hausmann* und *Loewy*[1]) im Davoser Forschungsinstitut bewiesen. Die genannten Forscher fanden, daß in der Höhenlage von Davos (1560 m Seehöhe) bereits die Frühjahrssonne ab Ende Februar unvorbehandelte Kaninchenblutkörperchen zu hämolysieren vermag, wenn sehr verdünnte Aufschwemmungen (1 : 500 und 1 : 1000) dem Sonnenlicht ausgesetzt werden. Unbedingt notwendig erwies es sich bei diesen Untersuchungen, den Grad der Hämolyse nicht nur unmittelbar nach dem Aufhören der Bestrahlung zu bestimmen, sondern wegen der Nachwirkung („photochemische Induktion" nach *Bunsen* und *Roscoe*, „Latenzzeit" nach *Dreyer* und *Hansen*) noch eine mindestens 24stündige Beobachtungsdauer anzuschließen.

Ich nahm die Gelegenheit wahr, die ersten einschlägigen Versuche gleichfalls im Davoser Forschungsinstitut im Winter 1926/27 in Angriff zu nehmen. Zuerst war zu prüfen, ob auch die Wintersonne (Dezember-Januar) in Davos Hämolyse hervorzurufen imstande ist.

Die angewendete Technik und Methodik, die in den wesentlichen Punkten jener von *Hausmann* und *Loewy* folgt, läßt sich dem als Beispiel angeführten, nachfolgenden Versuchsprotokoll entnehmen.

Versuchsprotokoll 3. 27. Dezember 1926. Verwendung findet eine 0,1% Suspension von defibriniertem Hühnerblut in 0,9% NaCl-Lösung (Natriumchlorid pro analysi *Merck*, um etwaige Verunreinigungen mit Lichtkatalysatoren im Sinne *Neubergs* ausschließen zu können). Die Ausmaße sämtlicher Quarz- und Glasröhrchen sind Höhe 10 cm, Weite 1 cm, Fassungsraum 5 ccm. Alle Röhrchen werden mit je 2 ccm der Erythrocytenaufschwemmung beschickt. Während der Bestrahlung stehen die Röhrchen zwecks Ausschluß der Wärmewirkung in einem Quarz- bzw. Glasbecherglas mit Wasserdurchfluß. Bestrahlung während der Mittagsstunden in hellem Sonnenschein[2]). Versuchsanordnung und Befunde laut Tabelle II.

Tabelle II.

Röhrchen Nr.	Röhrchen	Kühlgefäß	Inhalt	Bestrahlungszeit	Hämolysebefund	
					sofort	nach 24 Stunden
1	Quarz	Quarz	Je 2 ccm einer 0,1% Hühnerblutsuspension in 0,9% NaCl-Lösung	12—14h	vielleicht spurenweise Gelbverfärbung	fast komplette Hämolyse
2	„	„		12—14		
3	„	Glas		12—14	negativ	starke Hämolyse
4	„	„		12—14	„	
5	Glas	Quarz		12—14	„	schwächere Hämolyse
6	„	„		12—14	„	
7	„	Glas		12—14	„	sehr schwache Hämolyse
8	„	„		12—14	„	
9	„	„	Dunkelkontrolle	„	„	negativ
10	„	„		„	„	„

[1]) *W. Hausmann* und *A. Loewy*, diese Zeitschr. **173**, 1 bis 6, 1926.

[2]) Auf die wünschenswerte Bestimmung der Ultraviolettstrahlungsintensität der Sonne (Cadmiumzelle) während der Versuchszeit mußte leider aus äußeren Gründen verzichtet werden.

Die Ergebnisse fielen also positiv aus, *bestätigten die Hausmann-Loewyschen Angaben über Strahlenhämolyse nichtsensibilisierter Erythrocyten im Höhenklima* und ergänzten sie dahin, daß auch bereits die Ultraviolettstrahlungsintensität der Wintersonne in Davos groß genug ist, diesen Effekt zu erzielen. Die Befunde der genannten Autoren wurden auch in der Richtung erweitert, daß verschiedene Blutarten (Mensch, Schwein, Rind, Ratte, Huhn) untersucht wurden.

IV.

Nach Abschluß dieser Vorversuche wurde zu den Versuchsreihen mit Arsenvorbehandlung übergegangen, die in sinngemäß gleicher Anordnung wie die vorstehenden durchgeführt wurden. Selbstverständlich konnte man sich hierbei auf die Kombination Quarzröhrchen und Quarzkühlgefäße beschränken. Entsprechend den *Gunn*schen Versuchen wurden zu Vorbehandlungszwecken in erster Linie Lösungen von As_2O_3 (Arsentrioxyd) verwendet, in denen bekanntlich H_3AsO_3 (Arsenige Säure, Acidum arsenicosum, Arsenious acid) vorhanden ist, weshalb diese, chemisch genommen, zu sondernden Bezeichnungen ja auch vielfach synonym gebraucht werden. Die Präparate stammten von den Firmen Th. Schuchardt, Görlitz, und E. Merck, Darmstadt. Von letzterer Firma war auch das Arsensäurepräparat (Acidum arsenicicum purum), von Friedr. Bayer & Co., Leverkusen, ein organisches Arsenpräparat mit 36,4% As-Gehalt bezogen worden. Wie *Gunn* verwendete ich Stammlösungen von 1:5000 in 0,85% NaCl-Lösung (Natriumchlorid pro analysi *Merck*).

Die Versuche wurden für gewöhnlich nach dem Schema: 2 ccm 0,2% Erythrocytensuspension + 2 ccm 0,02% As-Lösung bzw. deren weiteren Verdünnungsstufen angesetzt und nach einstündiger Einwirkungsdauer der Bestrahlung unterworfen. Auch für diese Proben war die Nachbeobachtungsdauer mindestens 24 Stunden.

In keinem dieser Bestrahlungsversuche mit Höhensonne oder künstlichen Lichtquellen ließ sich ein Erfolg der Arsenbehandlung im Sinne einer unverkennbaren Hemmung oder Verzögerung der Strahlenhämolyse, d. h. also einer Resistenzsteigerung gegen strahlende Energie, feststellen. Zum Teil ergab sich mit Bezug auf Grad und Eintritt der Hämolyse gegen unvorbehandelte Kontrollen überhaupt kein nennenswerter Unterschied, *in der Mehrzahl der Fälle hatte aber unter den bestehenden Bedingungen der Arsenzusatz einen ausgesprochen Hämolyse begünstigenden Einfluß*. Das nachfolgend abgedruckte Versuchsprotokoll diene als Beleg für diese erhobenen Befunde.

Versuchsprotokoll 21. 6. Januar 1927. Verwendet wird 0,4% Suspension von defibriniertem Rinderblut in 0,85% NaCl-Lösung (Natrium-

chlorid pro analysi *Merck*) und 0,02% As_2O_3-Lösung in 0,85% NaCl-Lösung (obiger).

Strahlungsquelle: Quarz-Quecksilberlampe System Hanau (220 Volt, 6,5 Amp.). Bestrahlung in 50 cm Abstand. Proben in Quarzröhrchen und Quarzkühlgefäß wie Versuchsprotokoll 3.

Tabelle III.

Röhrchen Nr.	Röhrcheninhalt: Blutsuspension ccm	Röhrcheninhalt: As_2O_3-NaCl-Lösung ccm	Röhrcheninhalt: NaCl-Lösung ccm	Bestrahlungsdauer Minuten	Hämolysebefund nach 24 Stunden
1	2	2,0	—	30	fast komplette Hämolyse
2	2	0,5	1,5	30	
3	2	0,2	1,8	30	
4	2	0,05	1,95	30	partielle Hämolyse
5	2	—	2,0	30	
6	2	2,0	—	Dunkelkontrolle	negativ
7	2	0,5	1,5		„
8	2	0,2	1,8		„
9	2	0,05	1,95		„
10	2	—	2,0		„

Diese Befunde würden mit Beobachtungen gut übereinstimmen, die in jüngster Zeit von Dermatologen gemacht wurden und *Finkenrath*[1]) zu der Schlußfolgerung führten, daß wir im Arsen einen Sensibilisator für Röntgen- wie Ultraviolettbestrahlungen besäßen. Röntgen- und Licht- bzw. Ultraviolettempfindlichkeit gehe Hand in Hand und daraus ergebe sich die Möglichkeit, gewisse X-Strahlenschädigungen durch vorausgeschickte Lichtempfindlichkeitsprüfungen zu vermeiden. Bezeichnend sei die Tatsache, daß sich bei Röntgenbestrahlungen gerade nach vorhergegangener Arsenmedikation häufig Röntgenverbrennungen einstellen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung wären demnach dahin zusammenzufassen, daß die *Vorbehandlung der Erythrocyten mit Arsentrioxydlösungen offenbar einen gegensätzlichen Einfluß auf die Resistenz gegenüber verschiedenartigen hämolysierenden Agenzien auszuüben imstande ist.* Während dadurch gegenüber der Hypotonie-, Saponin- und Gallenhämolyse eine Resistenzsteigerung erhoben werden konnte, ergab sich gegenüber der Strahlenhämolyse meist eine Resistenzminderung bzw. — wegen möglicher Summationserscheinungen vorsichtiger ausgedrückt — eine Beschleunigung des Hämolyseeintritts und Verstärkung des Hämolysegrades. Diese Tatsachen wären natürlich auch für das Mechanismenproblem der verschiedenartigen Hämo-

[1]) *K. Finkenrath*, Zentralbl. f. Haut- u. Geschlechtskrankh. **21**, 173, 1926.

lysen von Bedeutung und würden für einen ja auch aus anderen Gründen schon höchstwahrscheinlichen, grundlegenden Unterschied im Mechanismus der Strahlenhämolyse einerseits, der übrigen drei aufgezählten Hämolyseformen andererseits sprechen.

Gewisse Feststellungen nötigen mich aber, hier vor vorschnellen Verallgemeinerungen und theoretischen Schlußfolgerungen zu warnen. Ich habe natürlich im Laufe dieser Untersuchung auch die *Gunn*schen Originalversuche genau nach Vorschrift und mit verschiedenen Abänderungen angestellt und dabei zu meiner Überraschung gefunden, daß der von *Gunn* als so außerordentlich augenfällig beschriebene Befund der Wasserhämolysehemmung durch Arsenbehandlung völlig ausbleiben kann. Nicht nur bei Zusatz der der Suspension gleichen Wassermengen (vgl. Tabelle I, S. 196) war das der Fall, sondern auch bei feiner abgestuften Versuchen, bei denen der für Eintritt der Hämolyse gerade notwendige Wasserzusatz ausgewertet worden war.

Es gelang bisher nicht, die Bedingungen restlos aufzuklären, bei denen diese Resistenzsteigerung gegen Wasserhämolyse eintritt und bei denen sie ausbleibt. Das eine kann nach zahlreichen Parallelversuchen als sichergestellt gelten, daß die Blutart und Blutgewinnung, ferner die Verwendung von nativem oder defibriniertem Blute in dieser Beziehung keine Rolle spielt. Eine mögliche Erklärung wäre vielleicht (abgesehen vom Einfluß der Wasserbeschaffenheit, CO_2-Gehalt, Reaktion usw.) durch das Vorhandensein bzw. Entstehen von Arsensäure in den Proben gegeben, denn jeder Kontrollversuch lehrt, daß mit dieser versetzte Blutproben auf Wasserzugabe besonders rasch und stark hämolysieren.

Zusammenfassung.

1. Die von *Hausmann* und *Loewy* 1926 erstmals beschriebene Tatsache, daß im Höhenklima (Davos, 1650 m Seehöhe) eine Strahlenhämolyse nichtsensibilisierter Kaninchenerythrocyten durch die Frühjahrssonnenbestrahlung zustande kommt, wird bestätigt und ergänzt. Die Befunde werden unter Heranziehung weiterer Blutarten (Mensch, Schwein, Rind, Ratte, Huhn) dahin erweitert, daß auch bereits die Ultraviolettstrahlungsintensität der Davoser Wintersonne (Dezember-Januar) für das Zustandekommen von Strahlenhämolyse genügt.

2. Während nach *Gunn* durch Vorbehandlung der Erythrocyten mit Arsentrioxydlösungen deren Resistenz gegen Wasser-, Saponin- und Gallenhämolyse deutlich erhöht wird, ist dies gegenüber der Strahlenhämolyse bei den gewählten Versuchsbedingungen nicht der Fall.

3. Mit Arsentrioxydlösungen versetzte Blutsuspensionen zeigten vielmehr bei Bestrahlung mit natürlicher Höhensonne und bei künst-

licher Ultraviolettbestrahlung (Hanauer Quarz-Quecksilberlampe) zum Teil keinen deutlichen Unterschied gegenüber unversetzten Kontrollen, zum Teil sogar eine unverkennbare Beschleunigung und Verstärkung der Hämolyse.

4. Diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit neueren Beobachtungen auf dermatologischem Gebiet, die zur Folgerung geführt haben, im Arsen einen Sensibilisator für Röntgen- und Ultraviolettbestrahlungen zu sehen.

5. Die Vorbehandlung von Blutkörperchen mit Arsentrioxydlösungen scheint demnach einen gegensätzlichen Einfluß auf die Resistenz gegenüber verschiedenartigen hämolysierenden Agenzien auszuüben (Resistenzsteigerung gegen Hypotonie-, Saponin- und Gallenhämolyse, Resistenzminderung gegen Strahlenhämolyse).

6. Unter bestimmten, ihrem Wesen nach noch nicht aufgeklärten Versuchsbedingungen kann die Resistenzsteigerung arsenvorbehandelter Erythrocyten gegen Wasserhämolyse unterbleiben.

Über die Absorption der Porphyrine im Ultraviolett.

Von

W. Hausmann und **O. Krumpel.**

(Aus dem Laboratorium für Lichtbiologie und Lichtpathologie am physiologischen Institut der Universität und aus dem photochemischen Laboratorium der graphischen Lehr- und Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 11. April 1927.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Die Absorptionsverhältnisse der Porphyrine sind seit langer Zeit Gegenstand eingehender Untersuchungen. Abgesehen von den Arbeiten der letzten Zeit beziehen sich diese Studien auf die Absorption in den sichtbaren Strahlenbezirken [vgl. insbesondere *Hans Fischer*[1])]. Erst in jüngster Zeit hat man begonnen, auch der Auslöschung der Porphyrine im Ultraviolett erhöhte Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Der Grund, aus dem wir uns mit der Absorption der Porphyrine in den kurzwelligen, nicht sichtbaren Strahlenbezirken beschäftigten, war zunächst ein biologischer. Die Porphyrine wirken, wie dies seit den Untersuchungen des einen von uns [*H.*[2])] bekannt geworden ist, photodynamisch. Sie besitzen die stärkste sensibilisierende Wirkung auf Warmblüter, die bisher beschrieben wurde.

Die photodynamische Wirkung dieser Körper ist jedenfalls in den längerwelligen sichtbaren Strahlenbezirken möglich, wie dies die Untersuchungen von *W. Hausmann*[3]), *W. H. Howell*[4]), *A. Campell* und *Hill*[5]), *R. Fabre* und *H. Simonnet*[6]) ergeben haben. In den Versuchen von *W. Hausmann* waren im wesentlichen die Strahlen einer Wellenlänge von $\lambda = 490$ bis 580 $\mu\mu$ wirksam. Nach den Untersuchungen von *Howell* war die Wirkung des Hämatoporphyrins am stärksten um $\lambda = 500\ \mu\mu$. Auch *A. Campell*

[1]) Handb. d. Biochem., 2. Aufl., **1**, 351, 1923; vgl. auch *I. Strub*, Zeitschr. f. wiss. Photogr., Photophys. u. Photochem. **29**, 97, 1926.

[2]) Diese Zeitschr. **30**, 275, 1910.

[3]) l. c.; vgl. ferner *L. Arzt* und *W. Hausmann*, „Strahlentherapie" **9**, 444, 1920; *H. Shibuga*, ebendaselbst **18**, 710, 1924.

[4]) Arch. intern. de physiol. **18**, 269, 1921.

[5]) British journ. of exper. pathol. **5**, 317, 1924.

[6]) Bull. de la soc. de chem. biol. **8**, 56, 1926.

und *L. Hill* haben gesehen, daß die Blutgefäße der Maus und des Frosches durch Hämatoporphyrin für die langwelligen Strahlen sensibilisiert werden. In den vor kurzem erschienenen Untersuchungen von *Fabre* und *Simonnet* erwies sich das Hämatoporphyrin im wesentlichen zwischen $\lambda = 576{,}9$ bis 579,0 $\mu\mu$ wirksam. Im Strahlenbezirk von $\lambda = 365$ $\mu\mu$ konnten diese Autoren jedoch keine sensibilisierende Wirkung beobachten.

Auf Ersuchen des einen von uns hat *J. M. Eder*[1]) photographische Platten mit Hämatoporphyrin sensibilisiert und hierbei beobachtet, daß sie für sichtbare Spektralbezirke sensibilisiert waren.

W. Hausmann und *C. Sonne*[2]) haben bei Untersuchungen mit isolierten Linien des ultravioletten Anteils des Quecksilberdampflichtes gesehen, daß rote Blutkörperchen durch Hämatoporphyrin auch für diese Strahlenbezirke sensibilisiert wurden. Untersucht wurden die Linien $\lambda = 365$, 313, 280 und 265 $\mu\mu$. Von diesen Wellenbezirken erfolgte die Sensibilisation am kräftigsten bei $\lambda = 313$ und 365 $\mu\mu$, bei $\lambda = 280$ und 265 $\mu\mu$ war es in geringerem Grade der Fall. In einigen Versuchen jedoch, in denen Hämatoporphyrinmäuse mit dem Licht einer Wellenlänge von $\lambda = 313$ $\mu\mu$ bestrahlt wurden, konnte bisher keine wesentliche Sensibilisation nachgewiesen werden. Hier besteht also bisher ein Gegensatz zwischen den Versuchen in vitro und in vivo.

Die Entscheidung der Frage, ob Porphyrine auch in den ultravioletten Strahlenbezirken sensibilisieren, ist auch von klinischem Interesse, da die mit Porphyrinurie einhergehenden Lichterkrankungen mit Empfindlichkeit in den kurzwelligen Strahlenbezirken verbunden sind. *Magnus Möller*[3]) und insbesondere *Leopold Freund*[4]) haben eindeutig gezeigt, daß die Lichtempfindlichkeit der Hydroa auf die Strahlenbezirke um $\lambda = 390$ bzw. 380 bis 325 $\mu\mu$ beschränkt ist und daß die langwelligen, sichtbaren Strahlenbezirke bei dem Zustandekommen dieser Affektion keine Rolle spielen.

An dieser Stelle soll auf die Frage der Abhängigkeit der Hydroa und anderer Lichtkrankheiten von der Porphyrinurie nicht eingegangen werden. Hier soll nur erörtert werden, ob nach photochemischen Voraussetzungen eine Sensibilisation in den kurzwelligen Strahlenbezirken durch Porphyrin überhaupt möglich ist.

Nach dem Gesetz von *Draper-Grotthus* wirken Strahlen nur in den Medien, von denen sie absorbiert werden.

Dieses gilt nach den grundlegenden Untersuchungen von *Tappeiner* und *Jodlbauer* auch für die photodynamisch wirksamen Körper. Diese Autoren zeigten, daß solche Substanzen ausschließlich in jenen Spektralbezirken zu wirken vermögen, die von ihnen zurückgehalten werden. Es war daher zunächst zu untersuchen, ob die Absorptionsverhältnisse

[1]) Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. 1913, B. 122, Abt. IIa.

[2]) Strahlentherapie **25**, 174, 1927.

[3]) Der Einfluß des Lichtes auf die Haut in gesundem und krankhaftem Zustande. Stuttgart 1900.

[4]) Wien. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 5.

der Porphyrine im Ultraviolett eine sensibilisierende Wirkung in diesen Strahlenbezirken überhaupt denkbar erscheinen lassen oder nicht.

Soweit uns bekannt ist, hat sich insbesonders *H. Friedli*[1]) mit der Absorption der kurzwelligen Strahlen durch Porphyrine beschäftigt. *Friedli* fand bei Hämatoporphyrin-Dimethylester eine Absorptionsbande im ultravioletten Teile des Spektrums, deren stärkste Absorption bei $\lambda = 393{,}6\,\mu\mu$ gelegen war, das Minimum der Absorption lag bei $\lambda = 256{,}4\,\mu\mu$. Hierauf erfolgte eine neuerliche Absorptionsbande im Bereich der kürzeren Wellenlängen. Für Mesoporphyrin fand *Friedli* viel geringere Absorption im Ultraviolett als bei Hämatoporphyrin.

Wie wir einer persönlichen Mitteilung von Herrn Prof. Dr. *Hans Fischer* in München entnehmen, hat in jüngster Zeit auch *H. Scheibe* in Erlangen die Absorption der Porphyrine im Ultraviolett untersucht.

Nach einer uns vorliegenden Absorptionskurve (Mesoporphyrinester in Methylalkohol), die mit der von *H. Friedli* mitgeteilten Absorptionskurve übereinstimmt, liegt ein Maximum im ultravioletten Teile des Spektrums bei $\lambda = 390\,\mu\mu$, das Maximum der Durchlässigkeit bei $\lambda = 266\,\mu\mu$, auf das wieder eine stärkere Absorption im kurzwelligen Anteil folgt. Schließlich ist noch darauf hinzuweisen, daß vor kurzem von *Ch. Dhéré* und *E. Bois*[2]) die Fluoreszenzspektren verschiedener Porphyrine untersucht wurden.

Die Untersuchungen, über die wir nachstehend berichten, wurden mit Porphyrinen ausgeführt, die wir der Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. *Hans Fischer* in München verdanken, und zwar haben wir alkalisches und saures Hämatoporphyrin-Chlorhydrat, ferner Kopro- und Uroporphyrinester, sowie zum Vergleich Hämatoporphyrin-Tetramethylester in den Kreis unserer Untersuchungen gezogen. Der Koproporphyrinester stellt nach den Untersuchungen von *H. Fischer* einen Tetramethylester, der Uroporphyrinester einen Oktamethylester vor. Der Hämatoporphyrinester ist eine Dimethoxy-Diesterverbindung, die für gewöhnlich kurzerhand als Tetramethylester bezeichnet wird.

Die Untersuchungen wurden mit einem großen Quarzspektrographen ausgeführt. Als Lichtquelle diente ein zwischen Eisenelektroden überschlagender Funke eines großen *Ruhmkorff*schen Induktoriums, ohne daß es uns möglich war, die Spannung konstant zu erhalten. Hämatoporphyrin-Chlorhydrat wurde in wässeriger, alkalischer und saurer

[1]) Bull. de la soc. de chem. biol. **6**, 908, 1926. Vgl. dort die ältere Literatur, insbesondere *L. Marchlewski*.

[2]) C. r. **183**, 321, 1926.

Lösung, Uroporphyrinester, Koproporphyrinester und Hämatoporphyrin-Tetramethylester in Chloroform untersucht.

Die von uns erhaltenen Resultate sind aus den beigegebenen Abbildungen, sowie aus den Absorptionskurven und der Tabelle ersichtlich.

Tabelle.

Angenäherte Lage der Maxima und Minima der Absorption im Violetten und im benachbarten Anteile des Ultravioletts. Angabe der Wellenlänge in $\mu\mu$.

	Minimum	Maximum	Minimum
Hämatoporphyrin-Chlorhydrat in salzsaurer Lösung .	ca. 450	401	ca. 260
„ in alkalischer Lösung .	463	396	263
Uroporphyrinester in Chloroformlösung	466	408	275
Koproporphyrinester in Chloroformlösung	463	405	264
Hämatoporphyrin-Tetramethylester in Chloroformlsg.	466	403	274

Bei der Aufnahme, die der Abb. 1 zugrunde liegt, wurden verschiedene Konzentrationen einer alkalischen Lösung von Hämatoporphyrin-Chlorhydrat in 1 mm und 11 mm dicker Schicht gleichzeitig aufgenommen, so daß je zwei der aufeinanderfolgenden Teilspektrogramme je einer Aufnahme entsprechen. Die Konzentrationen wurden von $^1/_{1000}$ beginnend bis $^1/_{32\,000}$ gewählt. In der 11 mm dicken Schicht beginnt die Durchlässigkeit erst bei Aufnahme 3 (Spektrum 6), so daß von Aufnahme 4 (Spektrum 7 und 8) an sowohl die Aufnahmen durch 1 mm wie durch 11 mm sichtbar sind.

In Abb. 2 wurde dieselbe alkalische Lösung von Hämatoporphyrin-Chlorhydrat in einer Verdünnung $^1/_{1000}$ in 1 mm Schichtdicke bei verschiedenen, in geometrischer Reihe ansteigenden Belichtungszeiten untersucht.

Abb. 3 gibt das Spektrogramm einer alkalischen und Abb. 4 einer sauren wässerigen Lösung von salzsaurem Hämatoporphyrin verschiedener Konzentration bei einer Schichtdicke von 11 mm wieder.

Die Abb. 5, 6 und 7 entsprechen den Spektrogrammen verschiedener Konzentrationen von Uroporphyrinester, Koproporphyrinester und dem Tetramethylester des Hämatoporphyrins in Chloroform.

Zur Kontrolle wurde in der Versuchsserie, die der Abb. 5 zugrunde liegt, ein Spektrogramm des verwendeten reinsten Chloroforms ohne Zusatz aufgenommen; ferner wurde am Schluß der Aufnahmeserien Abb. 6 und 7 eine Aufnahme unter Vorschaltung der entleerten Quarzküvette hergestellt. In den Aufnahmeserien Abb. 5 und 7 wurde auch ein Kontrollspektrogramm des freien Eisenfunkenlichtes aufgenommen.

Die vorliegenden Absorptionsspektren ergeben zunächst, was das Hämatoporphyrin betrifft, Bestätigungen der von *Friedli* ausgeführten

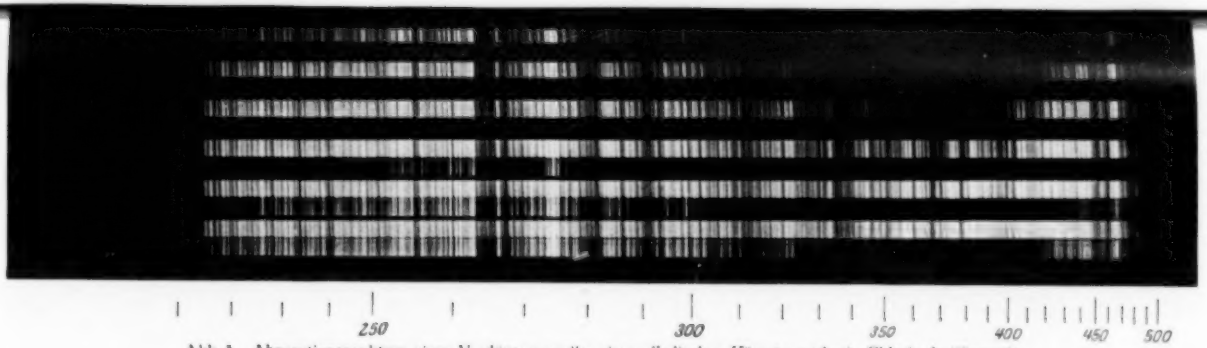


Abb. 1. Absorptionsspektren einer Verdünnungsreihe einer alkalischen Hämatoporphyrin-Chlorhydratlösung [1].

1.	Schichtdicke	1 mm.	Konzentration	$^1/_{1000}$.	2.	Schichtdicke	11 mm.	Konzentration	$^1/_{1000}$.
3.	"	1 "	"	$^1/_{2000}$.	4.	"	11 "	"	$^1/_{2000}$.
5.	"	1 "	"	$^1/_{4000}$.	6.	"	11 "	"	$^1/_{4000}$.
7.	"	1 "	"	$^1/_{8000}$.	8.	"	11 "	"	$^1/_{8000}$.
9.	"	1 "	"	$^1/_{16\,000}$.	10.	"	11 "	"	$^1/_{16\,000}$.
11.	"	1 "	"	$^1/_{32\,000}$.	12.	"	11 "	"	$^1/_{32\,000}$.

[1]) Die Zahlen der Wellenlängenskala sind in $\mu\mu$ ausgedrückt.

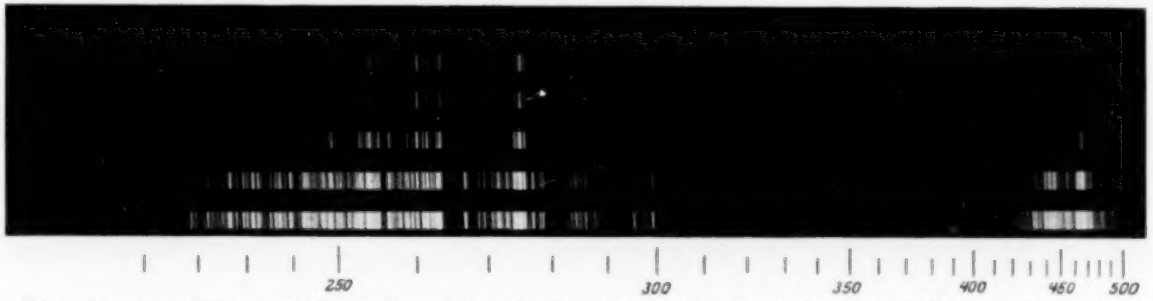


Abb. 2. Absorptionsspektren einer alkalischen Hämatoporphyrin-Chlorhydratlösung der Konzentration $^1/_{1000}$ bei den Belichtungszeiten $7^1/_2$, 15, 30, 60, 120 und 240 Sekunden in 1 mm Schichtdicke.

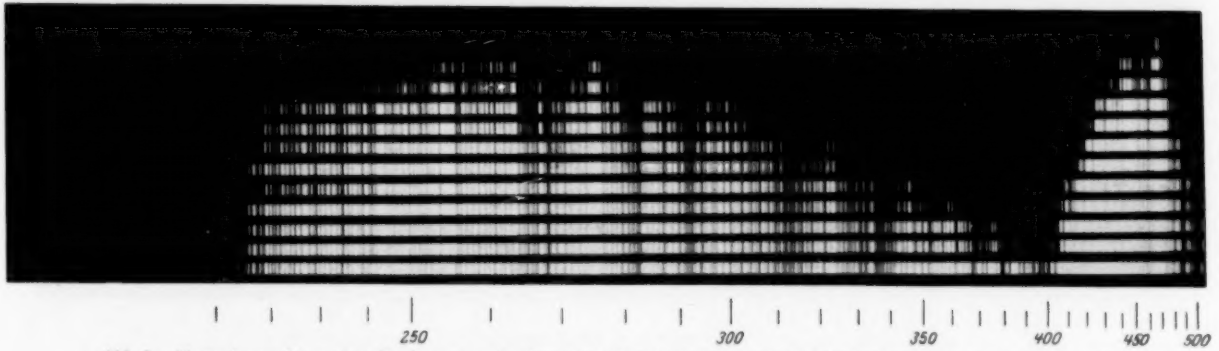


Abb. 3. Absorptionsspektren einer Verdünnungsreihe einer alkalischen Hämatoporphyrin-Chlorhydratlösung von $^1/_{4000}$ (Spektrum 1) bis $^1/_{192\,000}$ (Spektrum 12) in 11 mm Schichtdicke.

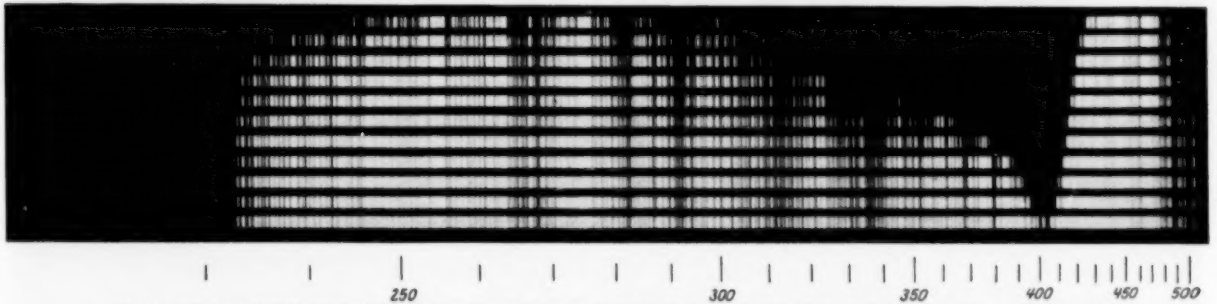


Abb. 4. Absorptionsspektren einer Verdünnungsreihe einer salzsauren Hämatoporphyrin-Chlorhydratlösung von $^1/_{8000}$ (Spektrum 1) bis $^1/_{256\,000}$ (Spektrum 11) in 11 mm Schichtdicke.

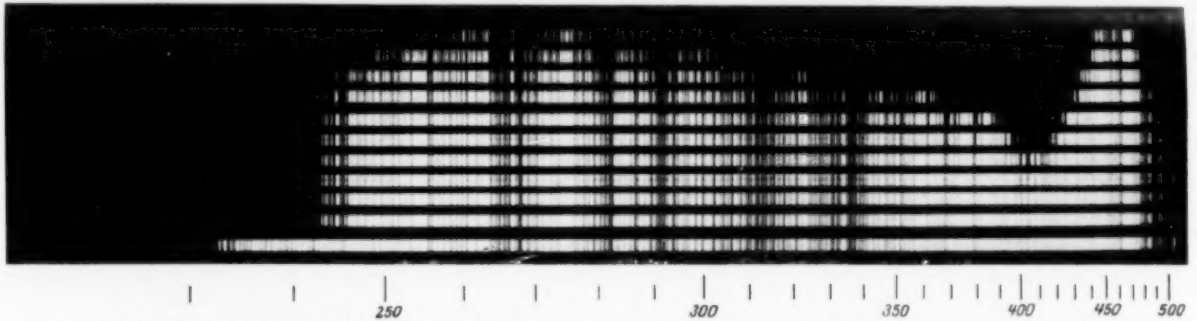


Abb. 5. Absorptionsspektren einer Verdünnungsreihe einer Lösung von Uroporphyrinester in Chloroform von $^1/_{2500}$ (Spektrum 1) bis $^1/_{1\,280\,000}$ (Spektrum 10) in 11 mm Schichtdicke. Spektrum 11 reines Chloroform in Quarzküvette. Spektrum 12 freies Eisenfunkenspektrum.

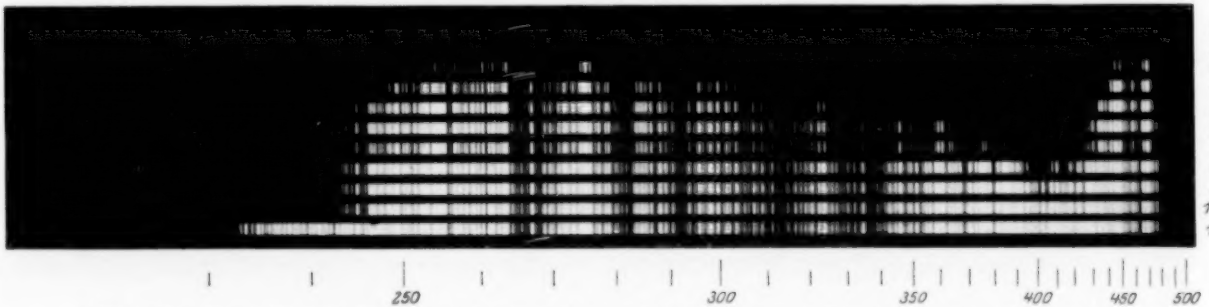


Abb. 6. Absorptionsspektren einer Verdünnungsreihe einer Lösung von Koproporphyrinester in Chloroform von $^1/_{2500}$ (Spektrum 1) bis $^1/_{1\,280\,000}$ (Spektrum 10) in 11 mm Schichtdicke. Spektrum 11 entleerte Küvette.

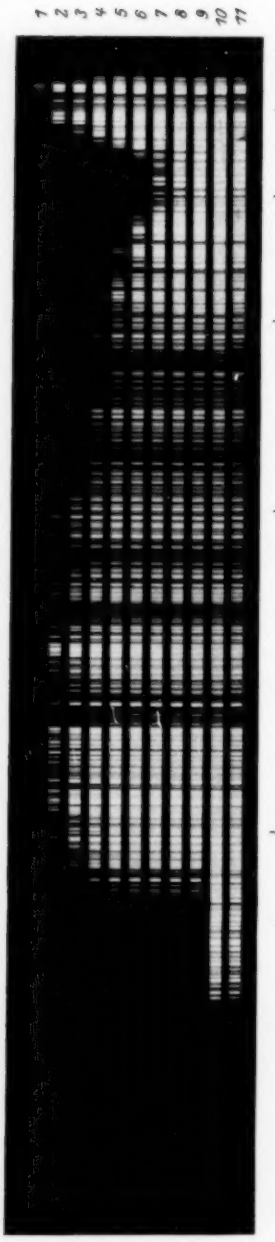


Abb. 7. Absorptionsspektren einer Verdünnungsreihe von Hämatoporphyrintetramethylester in Chloroform von $^1/_{3555}$ (Spektrum 1) bis $^1/_{1422220}$ (Spektrum 9) in 11 mm Schichtdicke. Spektrum 10 freies Eisenfunkenspektrum. Spektrum 11 entleerte Küvette.

Untersuchungen. Sie zeigen weiter, daß die Methylester des Kopro- und Uroporphyrins eine „Absorptionsbande" im langwelligeren Teile des Ultravioletts aufweisen, die untereinander und mit der des Hämatoporphyrins große Ähnlichkeit besitzen, aber nicht ganz übereinstimmen. Der von *Hans Fischer* seit Jahren betonte Unterschied des Kopro- und Uroporphyrins vom Hämatoporphyrin, der in den langwelligen Spektralbezirken von diesem Autor nachgewiesen wurde, ist demnach auch in den kurzwelligeren Strahlenbezirken erweislich.

Bei den stärkeren von uns untersuchten Konzentrationen macht sich ferner eine Absorption gegen den kurzwelligen Anteil des Ultravioletts bemerkbar, die aber bei den größeren Verdünnungen einerseits durch die bei der Photographie im kurzwelligen Licht gegebenen Verhältnisse, andererseits bei den Aufnahmen in Chloroform durch die Eigenabsorption des Chloroforms verdeckt wird.

Ein Blick auf das eben Gesagte zeigt, daß die Vorbedingungen für eine sensibilisierende Wirkung der natürlichen Porphyrine im Ultraviolett gegeben sind. Es kann sich bei der Hydroa und ähnlichen Affektionen nach den Untersuchungen von *Hans Fischer* nur um eine Wirkung des Uro- bzw. Koproporphyrins handeln. Da nach den grundlegenden

Untersuchungen von *Leopold Freund* die Hydroakranken in den Strahlenbezirken von $\lambda = 396$ bzw. 380 bis 325 $\mu\mu$ lichtempfindlich sind, so wäre bei einer sensibilisierenden Wirkung der Porphyrine die Absorptionsbande des Uro- bzw. Koproporphyrins von unter $\lambda = 300\,\mu\mu$ bis über $\lambda = 400\,\mu\mu$ als Vorbedingung für diese Lichtempfindlichkeit aufzufassen.

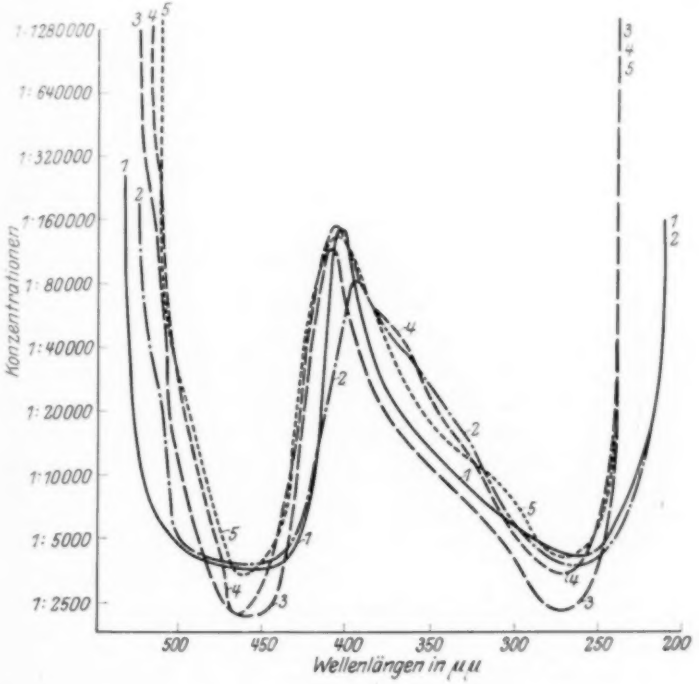


Abb. 8.

Absorptionskurven von 1. Hämatoporphyrin-Chlorhydrat in salzsaurer Lösung, 2. Hämatoporphyrin-Chlorhydrat in alkalischer Lösung, 3. Uroporphyrinester in Chloroform, 4. Koproporphyrinester in Chloroform, 5. Hämatoporphyrin-Tetramethylester in Chloroform.

Hierbei muß aber neuerlich mit Nachdruck darauf verwiesen werden, daß die experimentelle Sensibilisation gegen Hämatoporphyrin und Uroporphyrin immer auch mit Lichtempfindlichkeit in langwelligeren Strahlenbezirken verbunden ist. Da bei der Krankheitsgruppe der Hydroa die Lichtempfindlichkeit in den langwelligen Strahlenbezirken fehlt, so müßte hier eine Desensibilisation in den langwelligen, sichtbaren Strahlenbezirken angenommen werden.

Zusammenfassung.

1. In der vorliegenden Arbeit werden Absorptionsspektren des salzsauren Hämatoporphyrins in alkalischer und saurer Lösung, sowie die Absorptionsspektren des Tetramethylesters des Hämatoporphyrins, des Uroporphyrinoktamethylesters sowie des Koproporphyrintetramethylesters in Chloroform in den kurzwelligen Strahlenbezirken mitgeteilt.

2. Der Nachweis einer Absorption durch Uro- und Koproporphyrin in den Strahlenbezirken von unter $\lambda = 300\ \mu\mu$ bis über $\lambda = 400\ \mu\mu$ läßt eine sensibilisierende Wirkung dieser Substanzen im Ultraviolett möglich erscheinen. Jedoch ist bei dieser Annahme als weitere Voraussetzung bei den Lichtaffektionen nach Art der Hydroa eine Desensibilisation in den langwelligen, sichtbaren Strahlenbezirken erforderlich.

Untersuchungen über Höhenklimawirkung.

Von

Th. Brehme und **P. György.**

(Aus dem Schweizerischen Institut für Hochgebirgsphysiologie und Tuberkuloseforschung in Davos.)

(Eingegangen am 13. April 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Frage nach der besonderen Wirkung des Höhenklimas auf den Stoffwechsel gehört seit langem zu den interessantesten und umstrittensten Gebieten der Hochgebirgsphysiologie. Unter einer Anzahl von möglicherweise wirksamen Faktoren wurde bereits früher, in letzter Zeit aber besonders durch *Loewy*, dem Sauerstoffmangel der Höhenluft eine überragende Rolle zugeschrieben (Anoxämielehre), wobei es jedoch noch unentschieden war, ob dieser bereits in niederen Höhen oder erst (*Barcroft*, *Kestner*) in solchen von über 3000 m nachweisliche Veränderungen hervorruft.

Bezüglich des Wirkungsmechanismus des O_2-Mangels hat nachstehende Erklärung [*Haldane*, *Henderson-Haggard*[1]), *Loewy*] die meisten Anhänger gefunden. Es kommt zuerst infolge der mangelhaften Verbrennung zu einer Anhäufung intermediär gebildeter saurer Stoffwechselzwischenprodukte im Blute und damit auch in den lebenswichtigen Organen, insbesondere auch dem Atemzentrum (*Winterstein*). Die Folge dieser „lokalen Säuerung" ist eine erhöhte Erregbarkeit desselben, wodurch nun eine Hyperventilation einsetzt, die ihrerseits, anstatt der eigentlich durch die mangelhaften Verbrennungsprozesse (O_2-Mangel) zu erwartenden Acidose, letzten Endes zu einer sekundären Alkalose im Blute führt. (Dies schließt nicht aus, daß in den Nerven- und übrigen Geweben selbst eine Acidose herrscht.) Erst bei Versagen dieses als Regulationsmechanismus zu bezeichnenden Vorganges, z. B. durch starken O_2-Mangel bei der Erstickung, ist auch im Blute eine Acidose zu finden.

Immerhin war diese Lehre nicht unbestritten und die alte Streitfrage, Alkalose-Acidose bei O_2-Mangel, noch nicht mit Sicherheit geklärt. Folgende

[1]) Literatur siehe bei *György*, Schweiz. med. Wochenschr. 1924, Nr. 18.

Befunde seien daher noch erwähnt. Beim Menschen gelang es [*Hasselbalch* und *Lindhard*[1]), *Haldane*, *Kellas* und *Kennaway*[2])] in der pneumatischen Kammer bei allmählicher Herabsetzung des Luftdrucks eine Alkalose nachzuweisen, und zwar gemessen an der Säureausscheidung im Urin, die, wie sich zeigen ließ, beträchtlich abnahm. Dieser Befund steht in Analogie zu den Verhältnissen bei willkürlicher forcierter Überventilation, wobei es neben einer Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung ebenfalls zu einer deutlichen Abnahme der Urinacidität kommt [*Leathes*, *Collip* und *Backus*, *Davis-Haldane* und *Kennaway*, *Grant* und *Goldman*, *György* und *Vollmer* (Literatur siehe bei *György*, l. c.), *Gollwitzer-Meyer*[3])]. Bei Tieren scheint der vorerwähnte Regulationsmechanismus nicht einzusetzen, es erfolgt vielmehr, wie *Fritz*[4]) an Katzen zeigen konnte, eine Acidose im Blute. In früheren Selbstversuchen gelang es dem einen von uns (*György*, l. c.), wenigstens in Höhen von 2400 m an, eine ganz leichte Verschiebung des intermediären Stoffwechsels gegen die alkalische Richtung im Urin festzustellen.

Loewy und seine Mitarbeiter haben dann später in ausgedehnteren Versuchsreihen durch Untersuchungen im Urin und „indirekte Bestimmung" der Blutreaktion eine Acidose in größeren Höhen (Jungfraujoch 3400 m) nachweislich gemacht. Direkte Bestimmungen des Blut-p_H fehlten jedoch noch. Frühere, ebenfalls indirekte, Bestimmungen (*Straub*, *Barcroft* und ihre Mitarbeiter) hatten entweder keine oder nur eine leichte Säuerung in großen Höhen feststellen lassen.

Die in größeren Höhen als sicher anzunehmende Anoxämie muß — wie erwähnt — infolge mangelhafter Verbrennung zu einer Anhäufung von intermediär gebildeten Säuren, besonders der Milchsäure führen [Literatur bei *Laquer*[5])]. Andererseits wissen wir, besonders aus den Untersuchungen *Warburgs*, daß O_2-Mangel in den Geweben ein Überwiegen der Glykolyse gegenüber der Atmung (antagonistische Verkoppelung beider, „*Pasteur*sche Reaktion") bewirkt, und schon aus diesem Grunde müßte auch bei dem O_2-Mangel der Höhenluft eine vermehrte Glykolyse, gemessen am glykolytischen Endprodukt, der Blutmilchsäure, nachweisbar sein.

Erwähnt seien in diesem Zusammenhang Befunde, die Verfasser in zahlreichen Fällen bei kindlicher Anämie erheben konnten. Auch bei Anämien besteht infolge absoluter Verminderung der Erythrocyten und relativer und absoluter Verminderung des Hämoglobins eine mangelhafte O_2-Versorgung der Gewebe. Die dadurch bedingte stärkere Glykolyse prägt sich im Milchsäuregehalt des Blutes aus, der z. B. bei einem Falle von schwerer Säuglings- (Ziegenmilch-) Anämie mit 25,2 mg-% beträchtlich

[1]) *Hasselbalch* und *Lindhard*, diese Zeitschr. **68**, 1915.
[2]) *Haldane*, *Kellas* und *Kennaway*, Journ. of Physiol. **53**, 1919.
[3]) *Gollwitzer-Meyer*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **40**, 1924.
[4]) *Fritz*, Klin. Wochenschr. 1924, S. 2388.
[5]) *F. Laquer*, Zeitschr. f. Biol. **70**, 1919.

über dem üblichen Durchschnittswerte der Säuglinge von 14,2 mg-% liegt. Nach Heilung der Anämie (Transfusion, Ernährungstherapie) ist nunmehr die O_2-Versorgung der Gewebe wieder ausreichend, die Glykolyse geringer, und der Milchsäurespiegel beträgt 14,8 mg-%[1]).

Noch ein anderer Punkt muß hier erwähnt werden: Wenn die oben auseinandergesetzte These von der Kompensation der anfänglichen Acidose durch die Hyperventilationsalkalose zu Recht besteht, so müssen auch, abgesehen von der Säureausscheidung im Urin, die Verhältnisse des Stoffwechsels im Höhenklima ähnliche sein wie bei spontaner Hyperventilation, und es müßten andererseits in der Höhe bereits die Vorbedingungen gegeben sein zum Eintreten einer Hyperventilationstetanie, d. h. also, diese sollte sich in der Höhe leichter hervorbringen lassen als in der Ebene. Die Bestätigung dieser hypothetischen Forderung gelang auch dem einen von uns (*György*, l. c.), sowie laut mündlicher Mitteilung auch *Freudenberg*. Wir wissen aber ferner durch Untersuchungen zahlreicher Autoren [Literatur siehe bei *Brehme* und *Popoviciu*[2])], daß durch Hyperventilation die normale Adrenalinreaktion verändert wird, und zwar sowohl was Blutdruck als auch Blutzucker anlangt, eine Abschwächung erfährt[3]). In dieser Tatsache liegt nun aber auch die Möglichkeit, umgekehrt vielleicht durch Vergleich der Adrenalinreaktion in der Höhe (wo eine Hyperventilation bestehen soll) und in der Ebene, auf die Stoffwechsellage des Organismus Rückschlüsse zu ziehen.

Schließlich kann noch folgende Überlegung bei Betrachtung der Vorgänge im hyperventilierten Organismus angestellt werden: Überventilation führt zu einer Auswaschung von CO_2 aus dem Blute, und es müßten nunmehr, um die Regulation des Organismus aufrechtzuerhalten, die vorher an die CO_2 gebunden gewesenen Kationen, in ihrer Gesamtheit als „Gesamtbasen" bezeichnet, durch die Niere ausgeschieden oder in die Gewebe verdrängt, jedenfalls aber im Blute erniedrigt gefunden werden. Dahingehende Untersuchungen von *Peters*, *Bulger*, *Eisenmann*, *Lee*[4]) an hyperventilierten Personen konnten aber keine Erniedrigung der Gesamtbasen feststellen. Dagegen fanden die vorgenannten Autoren (in Fällen von Muskelübung und) bei Anoxämie eine *Erhöhung* der Gesamtbasen, so daß sich hier durch Bestimmung derselben eine Möglichkeit ergibt, die These der Anoxämie

[1]) Ausführliche Veröffentlichung der Befunde erfolgt anderen Orts.

[2]) *Brehme* und *Popoviciu*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **52**, 1926.

[3]) Wenn *Duzár* (Jahrb. f. Kinderheilk. **114**, 1926) bezüglich der Blutzuckerkurven zu anderen oder doch nicht eindeutigen Ergebnissen kommt, so liegt dies unseres Erachtens wahrscheinlich an der intravenösen Adrenalinapplikation und dem dadurch bedingten allgemeinen Schock.

[4]) *Peters*, *Bulger*, *Eisenmann*, *Lee*, Journ. of biol. Chem. **67**, 1926.

im Höhenklima weiter zu stützen, wenn auch, wie oben ausgeführt, ein Schluß auf die wahre Blutreaktion aus einer solchen Untersuchung nicht angängig ist.

Durch die liebenswürdige Gastfreundschaft des Instituts für Hochgebirgsphysiologie und Tuberkuloseforschung in Davos, besonders aber durch das freundliche Entgegenkommen des Institutsleiters, Herrn Prof. *A. Loewy*, wurde es uns ermöglicht, im August vorigen Jahres Untersuchungen über die oben skizzierten Fragen vorzunehmen. Unsere Absicht war, vergleichende Untersuchungen anzustellen in

Heidelberg, 116 m ü. d. M.,
Davos, 1550 m ü. d. M.,
Muottas Muraigl, 2450 m ü. d. M.,
Jungfraujoch, 3457 m ü. d. M.,

über

1. das p_H des Blutes,
2. die Adrenalin-Zuckerkurve,
3. den Milchsäuregehalt des Blutes,
4. die Höhe der Gesamtbasen.

Über die bei den Bestimmungen eingehaltene Technik und die angewandten Methoden sei nunmehr kurz berichtet.

Technik.

Als Versuchspersonen dienten die Verfasser selbst. Die Bestimmungen erfolgten an allen Orten zur selben Tageszeit, und zwar morgens, nüchtern, ohne daß weitere körperliche Anstrengung vorausgegangen wäre, was auch auf Muottas Muraigl und Jungfraujoch möglich war, da diese beiden Orte mit der Bahn erreicht wurden. Die Blutentnahme bzw. der Versuchsbeginn erfolgte auf Muottas Muraigl und Jungfraujoch sofort innerhalb der ersten halben Stunde nach der Ankunft, in Davos bei *G.* 1 Stunde nach Eintreffen, bei *B.* 12 Stunden danach. Bezüglich der einzelnen Methoden noch folgendes:

1. Zur p_H-Bestimmung wurde die *Cullen*sche[1]) direkte Methode angewandt, gegen die zwar einige theoretische Bedenken geltend gemacht werden können, die sich uns aber im klinischen Betrieb und *Schmelzer*[2]) (bei Untersuchungen über das Glaukom und bei Hyperventilationsversuchen) durchaus als sehr gut brauchbar und gerade für die Frage der Hyperventilationsalkalose geeignet erwiesen hat. Das Blut wurde als Oxalatplasma aus der ungestauten Armvene unter Paraffin gewonnen, ebenfalls unter Luftabschluß sofort zentrifugiert und verarbeitet. (Kolorimetriert

[1]) *Cullen*, Journ. of biol. Chem. **52**, 1922.
[2]) *Schmelzer*, Arch. f. Ophth. **118**, 1927.

gegen eine Phosphat-Standardreihe, abgestuft nach 0,05 p_H, deren Stammlösungen für alle Orte die gleichen waren.) Zum Zentrifugieren diente in Muottas Muraigl und Jungfraujoch eine kleine Handzentrifuge, die von einer dritten, nicht am Versuch beteiligten Begleitperson bedient wurde.

2. Adrenalin-Blutzuckerkurve. Appliziert wurden überall 0,8 Ampullen-Suprarenin Höchst 1 : 1000, gleiches Präparat an gleicher Stelle subkutan im linken Unterarm. Die Zuckerbestimmung erfolgte nach *Hagedorn-Jensen*[1]) in doppelter Kontrolle, stets in den gleichen Abständen durch 4 Stunden hindurch. Die Proben wurden in Heidelberg und Davos sofort verarbeitet, von Muottas Muraigl und Jungfraujoch, wo sie aufgekocht worden waren, jedoch in gut verstöpselten Gläsern nach Davos geschafft und dort analysiert. Nach den Feststellungen der Autoren der Methode tritt nach Aufkochen keine Glykolyse oder sonstige Veränderung der Werte ein, so daß die auch nach Tagen erst ausgeführte Bestimmung richtige Werte ergibt, wofür übrigens auch die von uns an allen Orten, unabhängig von der zwischen Entnahme und Analyse verflossenen Zeit, erhobenen fast gleichen Anfangswerte sprechen.

3. Zur Milchsäurebestimmung wurde das Blut ebenfalls nach vorheriger Ruhe aus der ungestauten Vene entnommen, an Ort und Stelle enteiweißt (nach *Folin-Wu*) und in Davos dann zentrifugiert und das Zentrifugat nach *van Slyke-Palmer* mit $Ca(OH)_2$ und $CuSO_4$ entzuckert. Die entzuckerten Filtrate wurden in Heidelberg destilliert[2]), doch wurden so hohe Werte gefunden, daß anzunehmen ist, daß die entzuckerten Filtrate im Sommer (ohne Eiskühlung) nicht haltbar sind. Wenngleich unsere so erhobenen Milchsäurewerte auch noch beträchtlich über anderen Proben liegen, die im Monat September nach der Rückkehr absichtlich 4 Wochen hindurch bei etwa gleich hoher Zimmertemperatur gehalten und dann erst destilliert wurden (wobei sich ebenfalls eine Zunahme der „Milchsäure" durch das Lagern ergab), so möchten wir doch auf die Wiedergabe unserer aus dem im Höhenklima entnommenen Blute erhaltenen Werte ganz verzichten und diese Frage späteren Untersuchungen vorbehalten.

4. Die Gesamtbasen wurden nach *Stadie-Ross*[3]) ermittelt, die Bestimmung (Veraschung und Titration) erfolgte in Heidelberg und Davos sofort, während die in Muottas entnommenen und mit Trichloressigsäure enteiweißten Serumproben erst in Heidelberg analysiert wurden. Die Bestimmung der Basen aus dem auf Jungfraujoch entnommenen Blute ist leider verunglückt.

Im übrigen wurden für jede Bestimmung *alle* in Betracht kommenden Lösungen von Heidelberg aus mitgenommen, so daß ein direkter Vergleich der an den verschiedenen Punkten erhobenen Werte angestellt werden kann.

Ergebnisse.

Die von uns erhobenen Werte seien nunmehr in einer Tabelle mitgeteilt, die Adrenalinkurven außerdem im Original wiedergegeben.

[1]) *Hagedorn-Jensen*, diese Zeitschr. **136**, 46, 1923.
[2]) Methode *Brehme-Brahdy*, diese Zeitschr. **175**, 348, 1926.
[3]) *Stadie-Ross*, Journ. of biol. Chem. **65**, 1925.

Ort	T. B.				P. G.			
	Datum	p_H	Max. Steigerung der Adrenalinreaktion in % d. Anfangswertes	Gesamtbasen in Milli-Äquival.	Datum	p_H	Max. Steigerung der Adrenalinreaktion in % d. Anfangswertes	Gesamtbasen in Milli-Äquival.
Heidelberg, 116 m ü. d. M.	7. VIII.	7,39	82	160,4	7. VIII.	7,41	53	155,7
Davos, 1550 m ü. d. M. . . .	18. VIII.	7,39	91	160,0	25. VIII.	7,41	55	185,0
Muottas Muraigl, 2450 m ü. d. M.	29. VIII.	7,37	82	171,0	29. VIII.	7,33	65	190,0
Jungfraujoch, 3457 m ü. d. M.	3. IX.	7,34	148	—	3. IX.	7,31	72	—

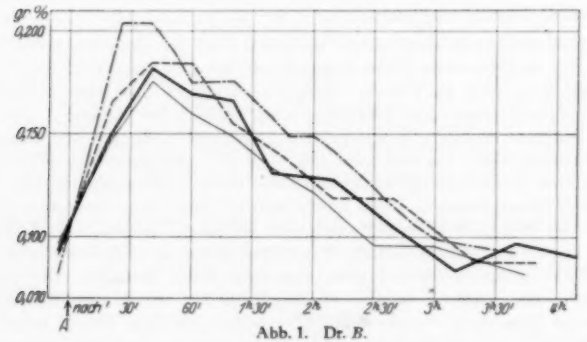


Abb. 1. Dr. *B.*

Heidelberg. ----- Davos. —— Muottas Muraigl. -·-·- Jungfraujoch.

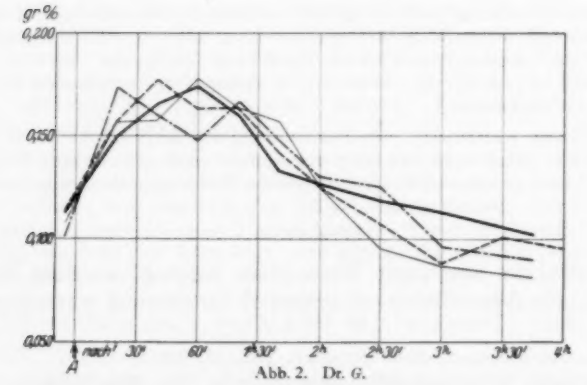


Abb. 2. Dr. *G.*

Heidelberg. ----- Davos. —— Muottas Muraigl. -·-·- Jungfraujoch

Was die Befunde im einzelnen anlangt, so weisen die p_H-Zahlen und die Adrenalinreaktionen zwischen Heidelberg und Davos keine Unterschiede auf. In Muottas Muraigl liegt das p_H von *G.* um 0,08 niedriger, was wohl dafür spricht, daß bei ihm sofort nach Erreichen der Höhe die Regulation des Säure-Basenhaushalts gestört war und dabei eine leichte Acidose zum Durchbruch kam. Dieser Befund ist um so bemerkenswerter, weil bei ihm in einer früheren Untersuchung (l. c.), *allerdings in 24stündiger Untersuchung aus dem Urin, d. h. in einer länger dauernden Periode und nicht in einem „Momentbild"* (womit wir eine einmalige Blutuntersuchung sofort nach dem Aufstieg bezeichnen möchten), eine leichte Verschiebung nach der alkalischen Seite gefunden worden war. Entsprechend dem aus dem p_H erhobenen Befund einer leichten Säuerung ist auch die Adrenalinreaktion von *G.* in Muottas Muraigl etwas höher als an den niedriger gelegenen Orten. Bei *B.* ist auf Muottas Muraigl weder eine Verschiebung der wahren Blutreaktion noch eine Veränderung der Adrenalinkurve feststellbar gewesen. Es ist daher wohl anzunehmen, daß bei ihm keine stärkere Belastung des Säure-Basenhaushalts erfolgt war, obwohl die alveolare CO_2-Spannung in diesen Höhen bereits meist herabgesetzt ist, vielmehr dürfte die dadurch bedingte Acidose durch die Hyperventilationsalkalose kompensiert worden sein. Auf dem Jungfraujoch zeigen dagegen die p_H-Zahlen beider Versuchspersonen eine deutliche Erniedrigung, so daß hierin eine starke Säuerung des Organismus, *wenigstens unmittelbar nach schnellem Erreichen der Höhe* (Bahnfahrt), zum Ausdruck kommt. Was die Adrenalinreaktion anlangt, so ist bei *G.* analog den Verhältnissen auf Muottas Muraigl und entsprechend der auch gegenüber diesem Orte noch gesteigerten Säuerung eine mäßige weitere Erhöhung zu verzeichnen, während bei *B.*, der bis Muottas Muraigl sein p_H konstant erhalten hatte und nunmehr in 3400 m Höhe eine sehr starke Senkung des p_H aufweist, die Adrenalinreaktion eine ganz besonders hohe und auffallende Steigerung erkennen läßt. Es ist wohl sicher, daß bei ihm das Säure-Basengleichgewicht beträchtlich und ziemlich anhaltend gestört war, wofür vielleicht auch die in allen Teilen und bis zum Ende des Versuchs über den vorher erzielten Zahlen liegende Kurve spricht.

Erwähnt sei an dieser Stelle, daß die subjektiven Erscheinungen der Adrenalinreaktion, die bei *B.* auch an den anderen Orten schon bedeutend stärker ausgeprägt waren als bei *G.*, auf dem Jungfraujoch ganz besonders stark, fast unerträglich waren (stärkster Kopfschmerz, Herzklopfen, Dyspnoe bei Treppensteigen und Beklemmungsgefühl). Nach Beendigung des Versuchs und etwa 1 Stunde nach Einnahme der Mittagsmahlzeit stellten sich dann starke Übelkeit, Nausea, Schwindel, Beklemmungsgefühl und Tremor ein, die erst nach Ankunft in Scheidegg (2064 m) wieder völligem Wohlbefinden Platz machten und wohl als

Symptome einer durch das Adrenalin noch verstärkten Bergkrankheit zu deuten sind.

Die direkten Bestimmungen des p_H und der Vergleich der Adrenalinreaktion in Höhe von 3400 m und an den anderen niedriger gelegenen Orten berechtigen also wohl zu dem Schluß, daß in diesen Höhen, *aber möglicherweise nur für kurze Zeit nach Erreichen derselben*, eine Acidose besteht. In diesem Punkte konnten also *Loewys* Untersuchungen (indirekte Bestimmungen) durch die von uns angewandte direkte Methode bestätigt werden.

Was die Gesamtbasen anlangt, so ergab sich bereits in Davos, noch mehr aber in Muottas Muraigl (die Bestimmung auf dem Jungfraujoch ist leider verunglückt), eine deutliche Erhöhung derselben bei beiden Versuchspersonen, ein Befund, den wir, wie oben ausgeführt, in Anlehnung an die Feststellungen von *Peters*, *Bulger*, *Eisenmann* und *Lee* als Ausdruck einer sich bereits von 1500 m an in gewissem Umfang auswirkenden Anoxämie deuten möchten.

Im Zusammenhang mit dieser Erhöhung der Gesamtbasen möchten wir die Frage der leichteren Auslösbarkeit der Hyperventilationstetanie mit steigender Höhe noch einmal streifen. Die vorgenannten amerikanischen Autoren haben nämlich in einem Falle von Tetanie einen erhöhten Basengehalt gefunden und damit die Empfänglichkeit des Patienten für Tetanie und Alkalose in Beziehung gebracht („In this instance it seems likely that the excessive amount of base in the serum rendered the patient more susceptible to alkalosis and tetany".) Nun ist aber, wie oben ausgeführt, in der Höhe die alveolare CO_2-Spannung meist herabgesetzt, d. h. auch der Gesamt-CO_2-Gehalt des Blutes vermindert, und beginnt nun noch die Versuchsperson, die, um ihren O_2-Bedarf in der Höhe zu decken, die Atmung sowieso schon gesteigert hat, außerdem willkürlich forciert zu atmen, so wird sozusagen fast die ganze CO_2 aus dem Blute ausgewaschen. Da nun gleichzeitig der Gesamtbasengehalt nicht nur nicht vermindert oder normal, sondern sogar erhöht ist, wird eine Verschiebung der Blutreaktion gegen die alkalische Seite leichter eintreten können als sonst: das Pufferungsvermögen des Blutes ist unter den gegebenen Umständen gegenüber der Norm herabgesetzt. So kommt es denn trotz *anfangs* bestehender normaler oder sogar leicht saurer Blutreaktion letzten Endes in der Höhe doch rascher als in der Ebene zu der für das Zustandekommen der Hyperventilationstetanie notwendigen Alkalose.

Schlußfolgerungen.

1. Die wahre Blutreaktion wurde in Höhe von 2400 m bei der einen, in 3400 m bei beiden Versuchspersonen sofort nach Erreichen der

betreffenden Höhe ziemlich stark nach der sauren Seite hin verschoben gefunden.

2 Die Adrenalinreaktion war bei beiden, besonders aber bei der einen Versuchsperson, in Höhe von 3400 m beträchtlich erhöht, was gleichfalls für eine acidotische Stoffwechselrichtung spricht.

3. Es wird ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die vorliegenden Ergebnisse nur die in den ersten Stunden des Aufenthalts in der Höhe herrschenden Stoffwechselverhältnisse betreffen und daher für die weitere Gestaltung der Stoffwechsellage im Höhenklima nicht maßgebend sind.

4. Die Erhöhung der Gesamtbasen, die bereits in Davos einsetzt, wird mit der Anoxämie in Beziehung gebracht.

Über das verschiedene Verhalten von Tauben und Hühnern bei Deckung ihres Vitamin-B-Bedarfs durch frisches grünes Pflanzenmaterial.

Von

Arthur Scheunert und **Martin Schieblich.**

(Aus dem Veterinär-Physiologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 16. April 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Bei Untersuchungen über den Vitamingehalt eingesäuerter Grünfutter hatten wir uns auch des Taubenversuchs zum Nachweis von Vitamin B bedient[1]). Es stellte sich dabei überraschenderweise heraus, daß es durch zwangsmäßige Zufütterung von täglich 6 g Sauerfutter nicht gelang, auf Reisdiät gehaltene Tauben vor Taubenberiberi zu schützen; ebensowenig gelang dies aber, als wir statt der Sauerfutterarten frisches grünes Gras in gleicher Menge den Tieren verabreichten. Dies führte zu dem Schluß, daß die Taube *kein geeignetes Versuchstier* ist, den offenbar ziemlich geringen Vitamin-B-Gehalt von grünen Pflanzen nachweisen zu können. Wir haben über die Frage der Eignung der Taube zum Nachweis von Vitamin B in grünem pflanzlichen Material noch einige weitere Versuche ausgeführt und wollen über diese im folgenden kurz berichten.

Die Höhe der Zugabe von frischem grünem Material ist durch technische Schwierigkeiten begrenzt. Alle grünen Pflanzen sind voluminös, werden nicht spontan aufgenommen, sondern müssen gestopft werden. Bei zu großer zwangsmäßiger Füllung des Kropfes bemühen sich die Tiere, den Inhalt herauszuwürgen. Es ist also der Zugabe eine obere Grenze gezogen. Wir geben zunächst Versuche an sechs Tauben tabellarisch wieder, bei denen *frisches Gras*, *frische Luzerne* und *frische Rübenblätter* geprüft wurden. Die Versuche waren so angelegt, daß die Tauben in Einzelkäfigen bei alleiniger Fütterung mit geschliffenem Reis gehalten wurden und daß sie vom ersten Versuchs-

[1]) *Scheunert* und *Schieblich*, Zeitschr. f. Tierzüchtung und Züchtungsbiol. einschl. Tierernährung **8**, 315, 1927.

tage an das durch den Wolf gedrehte frische Material in den aus der Tabelle zu entnehmenden Mengen zwangsweise einverleibt erhielten. Gewicht und Temperatur wurden zweimal wöchentlich festgestellt. Alles Nähere ist aus der Tabelle I ersichtlich.

Das Ergebnis der Versuche ist durchaus übereinstimmend und zeigt, daß es weder mit 6 und 8 g bei frischem Gras und Zuckerrübenblatt, noch mit 6 bis 10 g bei einem so vorzüglichen Material wie Luzerne gelang, die Tauben vor dem Vitamin-B-Mangel zu schützen, ja, man kann nicht einmal sagen, daß der Eintritt des letzten Stadiums (größte Hinfälligkeit bzw. Krämpfe) offensichtlich verzögert gewesen wäre. Selbst wenn wir nun den Vitamin-B-Gehalt bzw. den Gehalt an antineuritischem Faktor in grünem Material als sehr gering veranschlagen, ist dieses Ergebnis doch befremdlich, und wir legten uns die Frage vor, ob nicht vielleicht der anatomische Bau und die physiologischen Funktionen des Verdauungstraktus der Tauben, die bekanntlich reine Körnerfresser sind, eine besonders schlechte Ausnutzung des Vitamins B aus grünem Material bedingen. Es hätte vielleicht auch möglich sein können, daß das Vitamin B in grünen Pflanzenzellen auf irgend eine Weise vor der Ausnutzung im Darmkanal der Taube geschützt wäre. Dies erschien besonders im Hinblick auf die Untersuchungen von *Biedermann*[1]) über die Widerstandsfähigkeit lebendiger grüner Pflanzenzellen gegen Verdauungssäfte nicht außer dem Bereich der Möglichkeit zu liegen. Wir stellten deshalb einige Versuche darüber an, ob durch Vorbehandlung des Materials mit lipoidlösenden Mitteln das negative Ergebnis abgeändert werden könnte.

Es wurde derart vorgegangen, daß das Material, um eine Lösung der Lipoide der pflanzlichen Zellen zu bewirken und dadurch den Angriff der proteolytischen Verdauungsfermente zu erleichtern, vor der Verabreichung an die Tauben 24 Stunden lang mit einem Gemisch von Äther und Alkohol 1 : 4 stehengelassen und alsdann die Extraktionsmittel abgedunstet wurden. Von einer solchen Maßnahme konnte nach den Ergebnissen von *Mangold*[2]), die allerdings an Hühnern erhalten worden waren, eine Verstärkung der Proteolyse des Pflanzenzellinhalts im Darm erwartet werden. Jedoch auch mit so vorbereitetem Material waren unsere Ergebnisse, die wir in Tabelle II wiedergeben, durchweg negativ.

Wir wurden hierdurch in dem Schluß bestärkt, daß die verwendeten Grünfuttermittel entgegen der allgemein verbreiteten Anschauung keineswegs als sehr reich an dem antineuritischen Faktor des Vitamins B angesehen werden dürfen.

---

[1]) *W. Biedermann*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **174**, 358, 1919.
[2]) *E. Mangold*, diese Zeitschr. **156**, 3, 1925.

Tabelle I.

Taube Nr.	Geprüftes Grünfutter	Dauer des Versuchs Tage	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Anfangstemperatur	Endtemperatur	Höhe der Zulage	Ergebnis
12	Frisches Gras	39	373	225	41,7°	38,9°	6 g	negativ *) (sehr elend)
18	„ „	36	441	290	41,6	38,2	8 g	Krämpfe *)
21	Luzerne	35	324	228	41,4	39,4	8 g, vom 29. Tage ab 10 g	negativ *) (sehr elend)
24	„	35	298	196	42,2	nicht ermittelt	6 g, vom 29. Tage ab 10 g	gestorben
5	Zuckerrübenblatt	25	294	196	42,2	39,2°	6 g	negativ *) (sehr elend)
44	„	25	345	242	42,0	38,3	8 g	negativ *) (Lähmung)

*) Durch Hefezugabe rasche Heilung.

Tabelle II.

Taube Nr.	Geprüftes Grünfutter	Dauer des Versuchs Tage	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Anfangstemperatur	Endtemperatur	Höhe der Zulage	Ergebnis
42	Eingesäuertes Rübenblatt, vorher mit Alkohol und Äther behandelt	18	338	252	43,0°	40,0°	6 g, vom 12. Tage ab 8 g, vom 16. Tage ab 12 g	negativ *)
49	Dasselbe	18	320	219	42,2	40,0	6 g, vom 9. Tage ab 8 g, vom 16. Tage ab 12 g	negativ *)
51	Frisches Gras, ebenso behandelt	45	358	280	42,1	37,8	6 g, vom 9. Tage ab 8 g	Krämpfe *)
52	Dasselbe	16	320	233	41,4	37,9	6 g, vom 9. Tage ab 8 g	gestorben

*) Durch Hefezugabe geheilt.

Um aber in dieser Frage ganz sicher zu gehen, stellten wir noch Versuche mit Preßsäften an, die mit Hilfe der Buchnerpresse in üblicher Weise aus dem frischen grünen Material gewonnen worden waren. Die Verwendung dieser Preßsäfte bietet den Vorteil, daß die zwangsweise Fütterung leicht vonstatten geht, da diese in den Kropf eingespritzt werden können und nicht so voluminös sind, wie die ihnen entsprechenden Mengen Frischmaterial. Andererseits sind damit aber auch Nachteile verbunden. Zunächst gestattet ihre Verwendung nicht, einen sicheren Rückschluß auf den Vitamingehalt des Ausgangsmaterials zu ziehen, da man nicht beurteilen kann, wieviel von der im Frischmaterial enthaltenen Vitaminmenge in den Preßsaft übergeht. Weiter aber passieren diese Preßsäfte sehr rasch den Verdauungstrakt der Tauben. Man kann an der Färbung der Fäzes dies direkt verfolgen und feststellen, daß schon 1 bis 2 Stunden nach der Zwangsfütterung die ersten Anteile der Preßsäfte wieder entleert werden. Es ist also sehr leicht möglich, daß bei ihnen die Ausnutzung eine sehr schlechte ist. Aus allen diesen Gründen erscheint die Verwendung von pflanzlichen Preßsäften zu Vitaminversuchen an Tauben als ungeeignet. Die Versuche mit *Preßsäften* verliefen dementsprechend auch *negativ*. Es wurden an insgesamt sechs Tauben geprüft: Preßsäfte von 1. frischem Rübenblatt, 2. frischem Gras, 3. frischer Luzerne. Die verabreichten Mengen entsprachen jeweils 6 und 10 bzw. 8 und 12 g Frischmaterial.

Das Gesamtergebnis der Versuche an *Tauben* zeigt also, *daß frische grüne Vegetabilien, und zwar Rübenblätter, Wiesengras und Luzerne, in Mengen bis zu 12 g täglich verabreicht, nicht genügen, um die Tiere vor Vitamin-B-Mangel zu schützen.* Der Eintritt der Mangelerscheinungen wird dabei nicht einmal hinausgeschoben. Es ist das immerhin ein bemerkenswertes Ergebnis, da Mengen von 6 bis 12 g Gras oder Luzerne für ein so kleines Tier wie eine Taube immerhin als recht beträchtlich gelten können. Sie entsprachen, auf das Durchschnittsgewicht unserer Tauben berechnet, 2 bis 4 g grünen Materials auf 100 g Taube.

Nun darf aber nicht vergessen werden, daß Tauben als reine Körnerfresser grüne Pflanzen überhaupt nicht aufnehmen, und es erscheint deshalb die Frage berechtigt, ob nicht andere Vögel, die regelmäßig Gras zu sich nehmen, den Vitamingehalt grüner Pflanzen besser zu verwerten vermögen, als das die Tauben tun. Grasfresser sind unter dem Hausgeflügel die *Hühner*, die mit Vorliebe Grasplätze und andere Grünflächen aufsuchen. Hühner sind zu Vitamin-B-Versuchen ebenfalls gut geeignet, und wir haben deshalb die Versuche mit Hühnern wiederholt. Da Hühner bedeutend schwerer als Tauben sind, bezogen wir die zu verabreichende Grünfuttermenge auf das Körpergewicht und gaben, da bei den Tauben 2 bis 4 g Grünfutter pro 100 g Körpergewicht

in keinem Falle genügten, den Vitamin-B-Bedarf zu decken, den Hühnern eine Grünfuttermenge, die 1,5 bis 2 g Grünfutter pro 100 g Körpergewicht entsprach. Die Versuchsergebnisse waren folgende:

Zwei Hühner erhielten *eingesäuertes Rübenblatt* aus einem Deutschen Futterturm, und zwar 2 bzw. 1,5 g auf 100 g Körpergewicht. Henne 1 mit 1140 g Anfangsgewicht erhielt somit 22 g, Henne 2 mit 1098 g 16 g Rübensilage pro Tag. Der Versuchsverlauf ist kurvenmäßig in

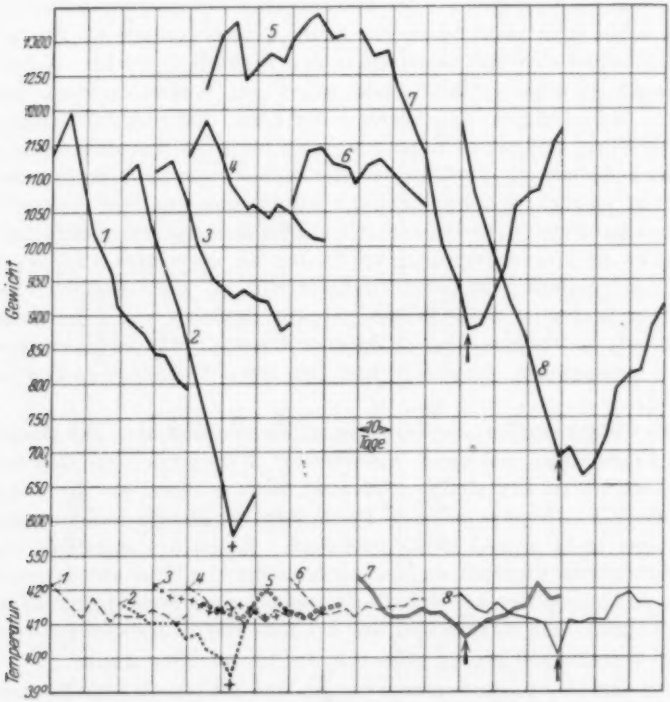


Abb. 1.

Abb. 1 dargestellt. Er ist eindeutig negativ. Das Körpergewicht sank bei beiden Tieren erheblich, um etwa 40 %. Die Körpertemperatur ging nur bei dem zweiten Tiere in den letzten Tagen merklich zurück. Die Tiere waren am 40. bzw. 33. Versuchstage in einer sehr bedenklichen Verfassung, besonders Nr. 2 konnte nicht mehr auf der Stange sitzen und zeigte ausgesprochene Schwäche der Beine. Durch Zugabe von 2 g Hefe (bei + der Abb. 1) wurde sofortige Besserung, Anstieg des Gewichts und Rückkehr normaler Körpertemperatur erzielt.

Zwei weitere Tiere (Hennen 3 und 4, Abb. 1) erhielten *eingesäuerten Rotklee*, und zwar ebenfalls 2 bzw. 1,5 g pro 100 g Körpergewicht. Auch bei ihnen gelang es nicht, mit dieser Zulage den normalen Ernährungszustand aufrecht zu erhalten, aber der Gewichtsabfall war, wie die Gewichtskurven zeigen, innerhalb von 40 Tagen viel geringer als bei den ersten Tieren. Auch die Körpertemperatur war nur ganz wenig gesunken. Man gewann dadurch den Eindruck, daß hier doch eine Vitamin-B-Wirkung vorgelegen haben müsse, wenn auch die zugeführten Mengen offenbar den Bedarf der Tiere nicht gedeckt hatten.

Es wurde deshalb zu weiteren Versuchen nunmehr zunächst *frisches Gras* herangezogen, und zwar erhielt Henne 5 mit 1230 g Anfangsgewicht 24 g und Nr. 6 mit 1061 g Anfangsgewicht 16 g frisches Gras. Dieser Versuch brachte einen vollen Erfolg. Nr. 5 hielt sich innerhalb der 40 Versuchstage auf ihrem Gewicht und auf normaler Körpertemperatur und legte in dieser Zeit 5 Eier. Auch Nr. 6 hielt sich mit der geringeren Menge auf ihrem Gewicht.

Ein letzter Versuch endlich erhärtet das gefundene positive Ergebnis noch weiter. Es wurde zunächst zwei Tieren (Nr. 7 und 8) *frisches Zuckerrübenblatt*, und zwar wieder 2 bzw. 1,5 g pro 100 g Körpergewicht täglich gereicht. Bei beiden Tieren genügten die damit zugeführten Vitamin-B-Mengen aber nicht (Abb. 1). Sie nahmen innerhalb von 30 Tagen stark an Körpergewicht ab und zeigten auch erheblichen Rückgang der Körpertemperatur. Nr. 7 war am 32. Versuchstage in sehr schlechter Verfassung, und da auch die Temperatur stark zurückgegangen war, wurde die Zulage geändert (Zeichen ↑ der Abb. 1) und an Stelle der 26 g Zuckerrübenblatt 26 g *frische Luzerne* gegeben. Bei Nr. 8 hatte die Zulage schon am 29. Versuchstage wegen schlechten Befindens des Tieres geändert werden müssen, und zwar waren ihr nunmehr 18 g Luzerne verabreicht worden. Beide Tiere erholten sich bei der Luzernezugabe sehr schnell und waren bereits 3 Tage nach Beginn derselben völlig munter und fraßen die Reiskost gut. Sie erholten sich bis zum Schluß des Versuchs am 60. Tage vollkommen, nahmen an Gewicht regelmäßig und erheblich zu und hatten ihre normale Körpertemperatur wieder erreicht.

Die Versuche an Hühnern zeigen also ein wesentlich anderes Ergebnis als die Taubenversuche. *Es ist mit frischem Gras und frischer Luzerne in Mengen von 2 und 1,5 g pro 100 g Körpergewicht gelungen, diese Tiere in normalem Zustande zu erhalten*, ja, beim Luzerneversuch sogar an Vitamin-B-Mangel leidende Tiere in normale Verfassung zurückzubringen. Im übrigen geben die Versuche weitere Anhaltspunkte über den Unterschied im Vitamin-B-Gehalt der geprüften Materialien und zeigen, daß Zuckerrübenblätter einen geringeren, Luzerne und Gras aber einen sehr wesentlich höheren Vitamingehalt besitzen. Vor

allem ist aber als bemerkenswertes Ergebnis festzustellen, daß *Hühner sich anders verhalten als Tauben.* Hühner kommen offenbar mit sehr viel geringeren Vitamin-B-Mengen aus als Tauben, oder vermögen das in grünen Pflanzenzellen enthaltene Vitamin B besser auszunutzen und zu verwerten als Tauben.

Wir legten uns die Frage vor, welche Mengen von grünem Material wohl an Tauben verfüttert werden müßten, um einen Schutz gegen Vitamin-B-Mangel zu erzielen. Da man Tauben größere Mengen als die von uns verabreichten nur mit sehr großen Schwierigkeiten beibringen kann, führten wir einen Versuch mit fein in der Kugelmühle gemahlenem *Luzerneheu* aus. Dieses stammte von der gleichen Luzerne, wie sie bei dem oben geschilderten Versuch zur Verwendung kam. Die Gewichtskurve der Taube 101, die wir in Abb. 2 geben, veranschaulicht den Verlauf des Versuchs und zeigt, daß erst 7 bis 8 g genügen, um Gewicht und Temperatur der Taube konstant zu erhalten. Diese entsprechen, unter Berücksichtigung des Trockensubstanzgehalts der frischen Luzerne und des Luzernemehles, etwa 37 g frischer Luzerne, also einer Zufuhr von etwa 10 g auf 100 g Körpergewicht Taube.

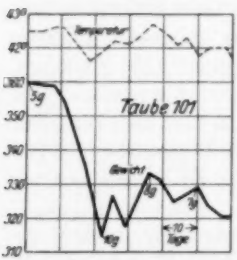


Abb. 2.

Selbst wenn ein Verlust an antineuritischem Vitamin durch die Heubereitung und Aufbewahrung der Luzerne eingetreten wäre, geht doch hieraus hervor, daß die zur Deckung des Vitamin-B-Bedarfs erforderlichen Grünfuttermengen bei Tauben außerordentlich groß sein müssen. Wir beabsichtigen, diese Verhältnisse durch neue Versuche noch weiter aufzuklären.

Zusammenfassung.

Nach den an Hühnern und Tauben mit frischen Zuckerrübenblättern, Gras und Luzerne und einigen Sauerfutterarten ausgeführten Untersuchungen werden von Tauben sehr viel größere Mengen solcher Materialien zur Deckung des Bedarfs an antineuritischem Faktor des Vitamins B benötigt als von Hühnern. Tauben sind, da man ihnen so große Mengen nicht beibringen kann, zur Prüfung solchen Materials ungeeignet, und man kann aus negativ verlaufenen Taubenversuchen nicht auf das Fehlen von antineuritischem Vitamin in grünem Pflanzenmaterial schließen.

Weiterer Beitrag zum Vitamingehalt des Bieres.

Von

Arthur Scheunert und **Martin Schieblich.**

(Aus dem Veterinär-Physiologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 16. April 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Vor einiger Zeit haben wir ausführliche Untersuchungen über den Vitamingehalt obergärigen und untergärigen Bieres angestellt und dabei gefunden, daß Vitamin A und C in den untersuchten Biersorten nicht und Vitamin B im untergärigen Biere in minimalen Spuren, im obergärigen aber etwas reichlicher vorhanden war[1]).

Neuerdings erhielten wir Kenntnis von einem *Schwarzbier*, welches zu Versuchszwecken unter Mitverarbeitung von Roggenkeimlingen hergestellt worden war. Da Roggenkeime einen sehr hohen Gehalt an Vitamin B besitzen[2]), erschien es uns von Interesse, im Anschluß an unsere ersten Untersuchungen dieses Bier auf seinen Vitamin-B-Gehalt genauer zu prüfen.

Das Bier wurde wie bei unseren früheren Untersuchungen im Vakuum bei etwa 40° schonend eingedickt und dabei aus 3000 ccm Bier 100 g Biersirup erhalten. Insgesamt wurden 15 Liter verarbeitet. Die Untersuchungen erstreckten sich sowohl auf den wachstumsfördernden Faktor des Vitamins B im Rattenversuch, als auch auf den antineuritischen Faktor im Taubenversuch.

1. Die *Versuche an Ratten* wurden in der in unserer früheren Mitteilung[1]) beschriebenen Weise angestellt.

Die vitaminfreie Nahrung hatte auf Grund unserer inzwischen gemachten Erfahrungen eine etwas andere Zusammensetzung. Sie bestand aus durch Extraktion vitamin-B-frei gemachtem Casein (20%), gehärtetem Pflanzenfett (15%), Salzgemisch nach *McCollum* und *Davis* (5%) und Maispuderstärke der Deutschen Maizenawerke (60%). Zwecks Zufuhr von Vitamin A wurden täglich 0,5 g Butterfett verabreicht.

---

[1]) *A. Scheunert* und *M. Schieblich*, Chemie der Zelle und Gewebe **12**, 45 bis 56, 1924.

[2]) *A. Scheunert*, diese Zeitschr. **183**, 113, 1927.

Die mit dieser Kost gehaltenen Ratten 1858 und 1859 nahmen, wie die beigegebenen Wachstumskurven (Abb. 1) zeigen, nur wenige Tage zu, stellten dann das Wachstum ein und verloren an Gewicht, so daß sie bereits am 18. Versuchstage die Erscheinungen des Vitamin-B-Mangels (Abmagerung, struppiges Fell, Hinfälligkeit, Kotfressen) zeigten. An diesem Tage wurde den Tieren täglich 0,5 g Biersirup zugelegt. Höhere Zulagen erschienen nicht angebracht, da sonst die

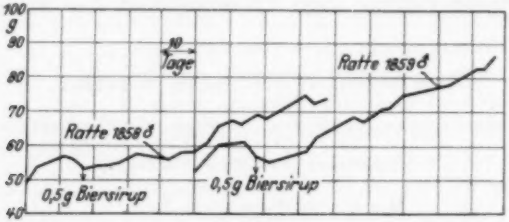


Abb. 1.

Gefahr der Verweigerung bestanden hätte. Schon die gegebenen 0,5 g wurden von Ratte 1858 gelegentlich nicht ganz aufgenommen. Die 0,5 g Biersirup brachten, wie die Wachstumskurven zeigen, das Wachstum der Ratten langsam und schleppend in Gang und vermochten es auch über die ganze Versuchsdauer von 69 Tagen hin zu unterhalten. Dies beweist, daß in dem Biersirup tatsächlich Vitamin B, und zwar dessen wachstumsfördernder Faktor, enthalten war. Seine Menge ist aber gering und noch nicht so hoch wie in dem von uns früher untersuchten, nach Porterart gebrauten Biere. Dies wird besonders deutlich, wenn man die dem gegebenen Extrakt entsprechende Biermenge auf 60 kg Ratte berechnet, wie wir es auch in unserer ersten Veröffentlichung getan haben. Es würden dann bei 60 kg Ratte täglich 18 Liter des untersuchten Schwarzbieres benötigt worden sein, während bei unseren früheren Untersuchungen mit 5 Liter Porterbier noch ein etwas besserer Wachstumserfolg erzielt worden war. Der Versuch zeigt also, daß das untersuchte Bier nur sehr geringe Mengen von Vitamin B enthält, die keineswegs die Mengen, die man in gewöhnlichem Biere findet, übersteigen.

2. Auf antineuritischen Faktor wurde an *Tauben* ebenfalls in der früher geschilderten Weise geprüft.

Die Tauben 7, 51 und 56 wurden in Einzelkäfigen auf Reisnahrung gehalten und ihnen täglich 2 g Biersirup vom ersten Versuchstage an zugelegt. Dieser Biersirup wurde mit vitamin-B-freier Maispuderstärke zu Pillen geformt und diese täglich den Tieren zwangsweise einverleibt. Es war sehr schwierig, die Tiere zu zwingen, diese Mengen bei sich zu behalten, da sie sich bemühten, dieselben zu erbrechen. Deshalb mußte auch von einer Erhöhung der Biersirupgabe Abstand genommen werden. Gewicht und Temperatur der Tiere wurden zweimal wöchentlich ermittelt.

Der Verlauf des Versuchs ist wiederum kurvenmäßig dargestellt (Abb. 2) und war durchaus eindeutig. Die 2 g Biersirup genügten nicht, um die Tiere vor der Polyneuritis zu schützen. Sie zeigten durchweg starken Gewichtsrückgang und den bekannten, vor den typischen Krankheitserscheinungen eintretenden Temperatursturz. Taube 7 bekam bereits am 19. Versuchstage die typischen Krämpfe und verendete am 21. Versuchstage. Bei den anderen Tieren wurde der Versuch vor Eintritt der Krämpfe durch Hefezugabe abgebrochen. Das Ergebnis des Versuchs ist somit dahin zusammenzufassen, daß es nicht gelang, in einer täglichen Gabe von 2 g Biersirup, die 60 ccm Bier entsprach, den antineuritischen Faktor nachzuweisen. Dieses Ergebnis entspricht ebenfalls dem unserer früheren Untersuchungen, bei denen es nur in einem Falle mit Porterbiersirup gelang, eine Taube längere Zeit vor dem Ausbruch der Taubenberiberi zu schützen. Es handelte sich dabei um eine offenbar besonders vitaminreiche Bierprobe, da andere Porterbierproben ebenso wie der aus hellem Bier gewonnene Sirup versagten. In unserem vorliegenden Falle war, wie schon der Rattenversuch zeigt, die Menge des Vitamins B noch wesentlich geringer als in dem damals untersuchten Porterbier und genügte nicht, um im Taubenversuch nachgewiesen zu werden.

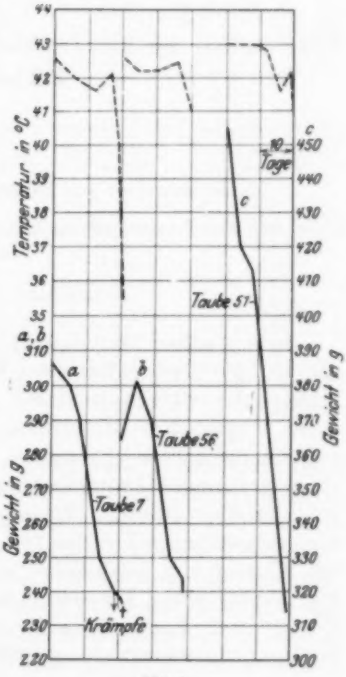


Abb. 2.

Zusammenfassung.

Ein auf seinen Gehalt an Vitamin B untersuchtes Schwarzbier, das unter Verwendung von Roggenkeimlingen hergestellt worden war, enthielt, wie Versuche an Ratten und Tauben zeigten, nur sehr geringe Mengen von Vitamin B, die den Vitamin-B-Gehalt anderer, früher untersuchter Biersorten nicht übersteigen. Der Vitamin-B-Gehalt war noch geringer als der eines damals untersuchten Porterbieres. Unsere früheren Untersuchungen erfahren hierdurch gleichzeitig eine Bestätigung.

Über die bei der Sauerfutterbereitung entstehenden flüchtigen Fettsäuren. II.

Von

C. Brahm

unter Mitarbeit von **Gertrud Andresen** und **Ruth Prillwitz.**

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 20. April 1927.)

In der ersten Mitteilung (1) hat der eine von uns (*Brahm*) über die bei der Einsäuerung von frischem grünen Mais im Elektrosilo auftretenden flüchtigen Säuren berichtet. Es konnten darin Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Methyläthylessigsäure und Capronsäure nachgewiesen werden. In der Literaturzusammenstellung wurden bei dem Vorkommen von Propionsäure nur amerikanische Forscher zitiert. Wir möchten ergänzend noch mitteilen, daß auch schwedische Forscher (2) das Auftreten von Propionsäure bei der Einsäuerung pflanzlicher Futtermassen beobachtet haben. Zu den vorliegenden Versuchen benutzten wir ein kohlehydratreiches Futtermittel, Zuckerrübenblätter und -köpfe, welche uns von der Städtischen Gutsverwaltung Buch geliefert wurden. Die Konservierung erfolgte in den Versuchsgärkammern, System *Gärtner* und *Aurich*, mit Preßvorrichtung, welche im Garten des Tierphysiologischen Instituts errichtet sind. Die Ausmaße derselben betragen $2 \times 2 \times 3{,}20$ m, so daß jede einen Rauminhalt von etwa 13 cbm aufweist. Die Kammern sind absolut wasserundurchlässig. Zum Anpressen der Futtermassen dient je eine unter dem Dache angebrachte Differentialhebelpresse. Von den Rübenblättern und -köpfen wurden 91 Zentner in ungehäckseltem Zustande eingebracht, gleichmäßig verteilt und festgetreten. Die Presse wurde nach Aufbringen eines passenden Bohlenbelags auf die Rübenblätter in Tätigkeit gesetzt, um eventuell noch vorhandene Hohlräume auszugleichen und die eingeschlossene Luft auszutreiben. Leider war das zu konservierende Futtermaterial nicht einheitlich.

da ein kleiner Teil Seradella mit angeliefert worden war. Der erste Versuch begann am 21. Oktober 1924. Die Temperatur wurde während der Konservierung durch Stabthermometer in 1 m Tiefe beobachtet. Dieselbe stieg nicht über 30° C. Durch das Anziehen der Presse wurde bald Zellsaft ausgetrieben. Die ganze Futtermasse setzte sich nach Aufhören des Zellturgors stark zusammen und war von dem Silosaft bedeckt. Nun wurden die Preßbohlen mit einer starken Lehmschicht abgedichtet, die wöchentlich angefeuchtet wurde, und die Masse sich selbst überlassen. Am 27. November 1924 wurde eine Probe des Silosaftes entnommen und ebenso am 22. Januar 1925. Die Analysen derselben waren nachstehende:

	Silosaftprobe 27. XI. 1924 %	Silosaftprobe 22. I. 1925 %
Wasser	94,88	93,82
Trockensubstanz	5,12	6,18
Organische Substanz	3,19	4,13
Protein	0,50	2,69
Asche	1,93	2,05
Essigsäure, frei	0,53	0,42
„ gebunden	0,12	0,08
Buttersäure, frei	nicht vorhanden	nicht vorhanden
„ gebunden	„ „	„ „
Milchsäure	0,39	0,99

Die Säuren wurden nach dem Verfahren von *Wiegner* und *Magasanik* (3) bestimmt. Die Konservierung des Futters dauerte bis Ende Januar 1925 (4). Der über der Futterkonserve stehende Silosaft diente als Ausgangsmaterial für die Gewinnung der flüchtigen Fettsäuren. Es wurden insgesamt 50 Liter verarbeitet. Nach Ansäuern mit Phosphorsäure bis zur kongosauren Reaktion wurden die freien Fettsäuren mit Wasserdampf abgetrieben, die Destillate mit Natriumhydroxyd alkalisch gemacht und auf dem Wasserbad zur Trockne gebracht. Die fettsauren Alkalien wurden in wässeriger Lösung durch Schwefelsäure zersetzt und viermal mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Fettsäurelösung wurde zunächst durch Stehen über geglühtem Natriumsulfat entwässert und dann unter Benutzung eines Birektifikators von Äther befreit. Die Trennung des Rohfettsäuregemisches geschah durch fraktionierte Destillation unter Zerlegung in Fraktionen, welche ungefähr der Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure und höheren Fraktionen entsprachen. Die Trennung und die Isolierung der einzelnen Säuren gestaltete sich sehr schwierig, da dem Gemisch verschiedene Ester beigemischt waren, welche ähnliche Siedepunkte zeigen wie die freien Säuren. Es wurden zunächst nachstehende Fraktionen aufgefangen:

1. Fraktion.	Bis	100° C	. . . . .	21 g
2. „	101	bis 119	. . . . .	265 g
3. „	120	„ 140	. . . . .	48 g
4. „	141	„ 155	. . . . .	7,6 g
5. „	156	„ 164	. . . . .	6,0 g
6. „	165	„ 174	. . . . .	4,5 g
7. „	175	„ 186	. . . . .	2,4 g

Die erste Fraktion bestand aus Wasser, Alkohol und Äther und einer geringen Menge eines Estergemisches, welches zwischen 76 und 98° C überging. Es schien eine Mischung von Essigsäure- und Propionsäureäthylester zu sein. Die Menge war zu gering, um eine genaue Analyse durchzuführen. Aus den übrigen Fraktionen wurden zunächst zur Orientierung Silbersalze hergestellt und dafür nachstehende Silberwerte gefunden:

Fraktion 2.

0,0642 g hinterließen 0,0380 g Silber.
Berechnet für *Silberacetat*, $C_2H_3O_2Ag$ = 64,63% Ag.
Gefunden: 59,2% Ag.

Fraktion 3.

0,0864 g lieferten 0,049 g Silber.
Berechnet für *Silberpropionat*, $C_3H_5O_2Ag$ = 59,62% Ag.
Gefunden: 56,71% Ag.

Fraktion 4.

0,0964 g lieferten 0,0542 g Silber.
Berechnet für *Silberbutyrat*, $C_4H_7O_2Ag$ = 55,34% Ag.
Gefunden: 54,94% Ag.

Fraktion 5.

0,6256 g lieferten 0,0542 g Silber.
Berechnet für *Silberbutyrat*, $C_4H_7O_2Ag$ = 55,34% Ag.
Gefunden: 55,25% Ag.

Fraktion 6.

0,1396 g lieferten 0,0738 g Ag.
Berechnet für *Silbervalerianat*, $C_5H_9O_2Ag$ = 51,62% Ag.
Gefunden: 52,87% Ag.

Fraktion 7.

0,1386 g lieferten 0,0711 g Ag.
Berechnet für *valeriansaures Silber*, $C_5H_9O_2Ag$ = 51,62% Ag.
Gefunden: 51,29% Ag.

Durch weitere fraktionierte Destillation ließ sich aus Fraktion 2 eine Säure gewinnen, welche zwischen 115 und 120° C überging. Ein daraus dargestelltes Silbersalz zeigte einen Silbergehalt von 62,97% Ag (0,642 g ergaben 0,1033 g Ag). Aus dem über 120° C siedenden Anteil der Fraktion 2 und aus Fraktion 3 ließ sich eine Säure isolieren, welche einen Siedepunkt von 140 bis 141° C zeigte. Ein daraus hergestelltes Silbersalz zeigte einen Silbergehalt von 59,98% Ag. 0,0937 g ergaben 0,0562 g Ag.

Berechnet für Silberpropionat, $C_3H_5O_2Ag$ = 59,62% Ag.

Aus den Fraktionen 4 und 5 ließ sich durch weitere Rektifikation ein Destillat gewinnen, welches ein Silbersalz mit 55,65% Ag aufwies. 0,0937 g ergaben 0,0452 g Ag.

In dem Vorlauf von Fraktion 2 konnte Ameisensäure in geringen Mengen nachgewiesen werden. Zur weiteren Identifizierung wurden die Kalksalze von Fraktionen 2, 3 und 4 dargestellt und darin nachstehende Werte für Ca gefunden:

Fraktion 2.

0,7487 g ergaben 0,2462 g CaO.

Berechnet für Calciumacetat, $\frac{CH_3COO}{CH_3COO}>Ca + H_2O = 22{,}69\%$ Ca.

Gefunden: 23,56% Ca.

Fraktion 3.

0,8445 g ergaben 0,2266 g CaO.

Berechnet für Calciumpropionat, $\frac{CH_3CH_2COO}{CH_3CH_2COO}>Ca + H_2O = 19{,}57\%$ Ca.

Gefunden: 19,18% Ca.

Fraktion 4.

0,7340 g ergaben 0,1762 g CaO.

Berechnet für Calciumbutyrat, $(CH_3CH_2CH_2)_2Ca + H_2O = 17{,}25\%$ Ca.

Gefunden: 17,16% Ca.

Nach nochmaligem Umkristallisieren wurde eine kalt gesättigte Lösung dieses Calciumsalzes hergestellt. Dieselbe trübte sich beim Erhitzen stark. In lufttrockenem Zustande wurde ein Kristallwassergehalt von 1% festgestellt. Ein weiteres Charakteristikum für normale Buttersäure.

Aus diesen drei Fraktionen wurden auch noch die entsprechenden Äthylester hergestellt und dafür nachstehende Siedepunkte gefunden:

Fraktion 2.

Kp. = 78,0° C unkorrigiert (Kp. für Äthylacetat 77° C).

Fraktion 3.

Kp. = 97,5° C (Kp. für Äthylpropionat 98,8° C).

Fraktion 4.

Kp. = 119,2° C (Kp. für Äthylbutyrat 119,9° C).

Von den Fraktionen 5, 6 und 7 wurde auch das optische Drehungsvermögen untersucht. Nur die letztere war optisch aktiv und zeigte eine Drehung von + 0,32°. Daraus errechnet sich ein ungefährer Gehalt von 1,85% an rechtsdrehender Methyläthylessigsäure, unter Zugrundelegung des spezifischen Drehungsvermögens von + 17,30° für reine Methyläthylessigsäure.

Aus einer gleich großen Menge Silosaft (50 Liter) aus einem zweiten Silo, der mit denselben Futtermassen, Zuckerrübenblättern und -köpfen nebst etwas Seradella, beschickt war, jedoch noch ein Konservierungssalz (Viehsalz) enthielt (3), wurden in derselben Weise die flüchtigen Fettsäuren isoliert. Die Menge der ungereinigten Fettsäuren betrug 445 g.

Die Rohfettsäuren wurden wieder der fraktionierten Destillation unterworfen und in nachstehende Fraktionen zerlegt:

1. Fraktion.	Kp.		bis	100° C	38 g
2. „	„	101	„	110	204 g
3. „	„	111	„	120	93 g
4. „	„	121	„	130	67 g
5. „	„	131	„	150	6 g
6. „	„	151	„	164	14 g
7. „	„	165	„	180	5 g
8. „	„	181	„	195	7 g
9. „	„	196	„	205	6 g

Der Vorlauf Fraktion 1 bestand ebenfalls wieder aus Wasser, Spuren von Alkohol und Äther und einer geringen Menge eines Estergemisches, dessen Siedepunkt zwischen 77 und 99° C lag. Es dürfte also ein Gemenge von Essigsäureäthylester und Propionsäureäthylester vorgelegen haben. Ameisensäure ließ sich ebenfalls wieder nachweisen. Aus den Fraktionen 2 und 3 wurde zunächst eine geringe Menge eines Esters abdestilliert, der zwischen 98 und 99° C überging. Der größte Teil der beiden Fraktionen ließ sich zwischen 110 und 124° C übertreiben. Zur Identifizierung wurden wieder Silber- und Kalksalze dargestellt.

Silbersalze.

Fraktion 2.

0,0656 g ergaben 0,0394 g Ag.
Berechnet für *Silberacetat*, $C_2H_3O_2Ag$ = 64,63% Ag.
Gefunden: 60,05% Ag.

Fraktion 5.

0,0937 g ergaben 0,0562 g Ag.
Berechnet für *Silberpropionat*, $C_3H_5O_2Ag$ = 59,62% Ag.
Gefunden: 59,98% Ag.

Fraktion 6.

0,0812 g ergaben 0,0452 g Ag.
Berechnet für *Silberbutyrat*, $C_4H_7O_2Ag$ = 55,34% Ag.
Gefunden: 55,65% Ag.

Fraktion 7.

0,1226 g ergaben 0,0614 g Ag.
Berechnet für *valeriansaures Silber*, $C_5H_9O_2Ag$ = 51,62% Ag.
Gefunden: 50,2% Ag.

Fraktion 8.

0,2046 g ergaben 0,1054 g Ag.
Berechnet für *valeriansaures Silber*, $C_5H_9O_2Ag$ = 51,62% Ag.
Gefunden: 51,53% Ag.

Fraktion 9.

0,1118 g ergaben 0,0532 g Silber.
Berechnet für *capronsaures Silber*, $C_6H_{11}O_2Ag$ = 48,20% Ag.
Gefunden: 47,6% Ag.

Kalksalze.

Fraktion 2.

0,6308 g ergaben 0,2007 g CaO.
Berechnet für $(C_2H_5O_2)_2Ca + H_2O$ = 22,69% Ca.
Gefunden: 22,74% Ca.

Fraktion 5.

0,8445 g ergaben 0,2266 g CaO.
Berechnet für $(C_3H_5O_2)_2Ca + H_2O$ = 19,59% Ca.
Gefunden: 19,18% Ca.

Fraktion 6.

0,5721 g ergaben 0,1432 g CaO.
Berechnet für $(C_4H_7O_2)_2Ca + H_2O$ = 17,67% Ca.
Gefunden: 17,90% Ca.

Fraktion 7.

0,5286 g ergaben 0,1170 g CaO.
Berechnet für $(C_5H_9O_2)_2Ca + H_2O$ = 15,39% Ca.
Gefunden: 15,81% Ca.

Bei der optischen Prüfung erwiesen sich nur die Fraktionen 7 und 8 schwach optisch aktiv. Die Drehung war in beiden Fällen rechtsdrehend, entsprechend einem Gehalt von 0,24% Traubenzucker. Die Capronsäurefraktion erwies sich als optisch inaktiv.

Ein weiterer Versuch wurde mit einem proteinreichen Futterstoff ausgeführt, und zwar wurde frische *Seradella* (Ornithopus sativus) gewählt.

Einzelheiten über diesen Versuch sind in dem Bericht von *Mangold* und *Brahm* (3) zu ersehen. Der Versuch wurde im November 1925 angesetzt und der Saft zu den Untersuchungen im März und April 1926 entnommen. Es wurden wieder 50 Liter der Wasserdampfdestillation unterworfen. An Rohfettsäuregemisch wurde aus den Alkalisalzen durch viermalige Ätherextraktion 764 g erhalten. Bei der ersten fraktionierten Destillation wurden nachstehende Fraktionen aufgefangen:

	Vorlauf bis	100° C	. . . . .	56 g
1. Fraktion.	101 „	112	. . . . .	351 g
2. „	113 „	140	. . . . .	246 g
3. „	141 „	160	. . . . .	40 g
4. „	161 „	175	. . . . .	19 g
5. „	176 „	190	. . . . .	12 g
6. „	191 „	220	. . . . .	7 g
7. „	221 „	255	. . . . .	5 g

Fraktion 1 und 2 wurden erneut destilliert und eine Säure erhalten, die größtenteils zwischen 112 und 120° C überging (Fraktion A). Der Destillationsrückstand wurde mit Fraktion 3 vereinigt und zwei

Destillate erhalten, die in der Hauptmenge zwischen 130 und 150° C (Fraktion B) und 155 und 165° C (Fraktion C) übergingen.

Bei der Prüfung des optischen Drehungsvermögens erwies sich nur die Valeriansäurefraktion optisch aktiv. Dieselbe zeigte eine geringe Rechtsdrehung, während die Capronsäurefraktion wieder optisch inaktiv war.

Die Silberwerte für die Fraktionen A, B, C, 4, 5, 6, 7 waren nachstehende:

Fraktion A.

0,2163 g ergaben 0,1367 g Ag.
Berechnet für *Silberacetat*, $C_2H_3O_2 . Ag$ = 64,63% Ag.
Gefunden: 63,05% Ag.

Fraktion B.

0,1020 g ergaben 0,0612 g Ag.
Berechnet für *Silberpropionat*, $C_3H_5O_2Ag$ = 59,62% Ag.
Gefunden: 60,00% Ag.

Fraktion C.

0,6256 g ergaben 0,3456 g Ag.
Berechnet für *Silberbutyrat*, $C_4H_7O_2Ag$ = 55,34% Ag.
Gefunden: 55,25% Ag.

Fraktion 4.

0,0636 g ergaben 0,0346 g Ag.
Berechnet für *Silberbutyrat*, $C_4H_7O_2Ag$ = 55,34% Ag.
Gefunden: 54,40% Ag.

Fraktion 5.

0,1396 g ergaben 0,0738 g Ag.
Berechnet für *Silbervalerianat*, $C_5H_9O_2Ag$ = 51,62% Ag.
Gefunden: 52,87% Ag.

Fraktion 6.

0,2240 g ergaben 0,1074 g Ag.
Berechnet für *Silbercapronat*, $C_6H_{11}O_2Ag$ = 48,20% Ag.
Gefunden: 47,96% Ag.

Fraktion 7.

0,1344 g ergaben 0,050 g Ag.
Berechnet für *Silbercaprinat*, $C_{10}H_{19}O_2Ag$ = 38,48% Ag.
Gefunden: 37,65% Ag.

Der Destillationsrückstand der Fraktion 7 wurde nochmals in Äther aufgenommen, durch aktive Kohle entfärbt, der Äther verdampft und der Rückstand nochmals vorsichtig destilliert. Eine geringe Menge ging zwischen 265 und 273° C als dickes gelbes Öl über. Die Ausbeute war sehr gering und reichte nur zur Darstellung eines Silbersalzes, dessen Silberwert zu 36,32% gefunden wurde.

0,2456 g ergaben 0,0892% Ag.

Sowohl diese Fraktion wie Fraktion 7 dürften keine reinen einheitlichen Säuren der zehn Kohlenstoffreihen mehr darstellen. Eine Lösung der hochsiedenden Fraktion in Äther zeigte keine optische Aktivität.

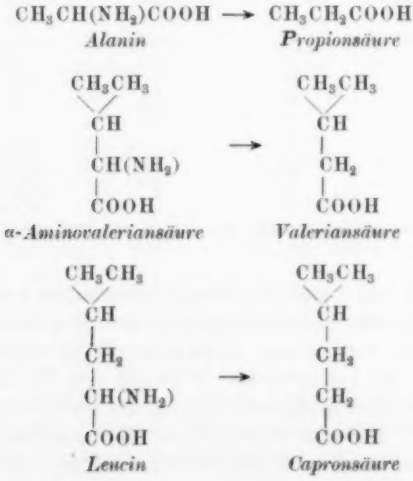
Über die Bildungsmöglichkeiten dieser Säuren läßt sich ein scharf umrissenes Bild nicht geben, da in diesen gärenden Futtermassen eine ganze Reihe von Vorgängen nebeneinander verlaufen. Es handelt sich bei den Vorgängen der Grünfutterkonservierung um energetisch-biologische Vorgänge, als deren Urheber wir Mikroorganismen, besonders Bakterien und Pilze, ferner Fermente unterscheiden müssen. Dazu kommt noch das Stadium der Sauerstoffatmung und der anaeroben Atmung in den zu konservierenden Pflanzen selbst. Die natürliche Atmung der lebenden, frisch geschnittenen Pflanzen ist eine Sauerstoffatmung, die eine bedeutende Energieentwicklung (Wärme) zur Folge hat. Es ist dabei Verbrauch von Sauerstoff, Bildung von Kohlensäure und Wasser charakteristisch. Ein sehr interessanter Versuch über die beim Lagern frisch gemähten Grases auftretenden Gase liegt von *Berthelot* (5) vor. Ein Haufen von 50 cm Höhe und 1,80 m Durchmesser frisch gemähten Grases wurde mit einem Tuche bedeckt und etwa 3 Wochen die Temperatur innerhalb des Haufens und die Außentemperatur bestimmt und die Zusammensetzung der sich innerhalb der Grasmassen bildenden Gase fortlaufend analysiert. T' = Temperatur in der Mitte des Haufens, T = Temperatur der umgebenden Luft.

Datum	T °C	T' °C	CO_2 %	O %	N %
1. (früh)	20,5	37	1,2	19,5	79,3
1. (abends)	18,5	39	2,17	18,9	78,9
2.	—	—	2,3	19,3	78,4
3.	16,5	40,5	2,8	17,9	79,3
4.	—	—	2,4	18,1	79,5
5.	16,0	44	5,0	16,6	78,4
6.	17,0	50	10,8	10,9	78,3
7.	17,5	53	16,6	6,0	77,4
8.	21,0	49,5	19,4	3,0	77,6
10.	21,5	39	17,9	5,2	76,9*)
11.	13	29	8,5	13,9	77,6
14.	14	23	2,1	18,7	79,2
16.	12	19	2,9	17,3	79,8
19.	10	16	1,7	18,3	80,0†)

*) Der Haufen setzt sich auf die Hälfte zusammen. — †) Alkohol in Spuren.

Die Atemtätigkeit ist chemisch als eine Oxydation aufzufassen, bei welcher der durch die lockere Lagerung des eingefüllten Pflanzenmaterials reichlich vorhandene Luftsauerstoff gebunden wird, ein Vorgang, der auf der katalytischen Wirkung von Fermenten beruht. Daneben spielt die intramolekulare Atmung der noch lebenden Pflanzen eine große Rolle. *Palladin* (6) vergleicht die anaerobe Atmung mit den Vorgängen der trockenen Destillation, die aus einer Reihe auf-

einanderfolgender Reduktionen und Oxydationen auf Kosten des gebundenen Sauerstoffs besteht und die durch die Anwesenheit besonderer Fermente ermöglicht ist. Während bei Luftzutritt die Produkte der anaeroben Atmung durch die Oxydation mit Hilfe des Luftsauerstoffs gänzlich zerstört werden, werden sie bei Luftabschluß wenigstens teilweise in höher molekulare Substanzen wie Alkohol und Fettsäuren übergeführt. Die anaerobe Atmung stellt eine langsame Verbrennung der Zuckerarten und anderer Stoffe bei niederen Temperaturen dar. Der Verlauf derselben hängt von der Größe des Sauerstoffabschlusses und der Menge des gärungsfähigen Zuckers in der Futterpflanze ab. Wie die Pflanzenatmung, so führt auch die Mikroorganismentätigkeit bei Luftabschluß nicht zur vollständigen Zerstörung der Pflanzenstoffe. Es werden auch hierbei neben Kohlensäure und Wasser höhermolekulare Abbauprodukte, wie Alkohol und organische Säuren, gebildet. Letztere lassen sich in flüchtige und nicht flüchtige unterscheiden. Während Milchsäure und Essigsäure vorwiegend auf Kosten der N-freien Extraktstoffe gebildet werden, dürfte Buttersäure und die höheren Fettsäuren auch bei der Zersetzung eiweißhaltiger Substanzen entstehen, wie dies *Neuberg* und *Rosenberg* (7) bei der Fäulnis von Eiweißstoffen nachweisen konnten. Die Bildung dieser verschiedenen Säuren ist nicht notwendigerweise auf bakterielle Tätigkeit zurückzuführen, sondern die Bildung kann auch durch die Tätigkeit von Fermenten entstehen. Als Ausgangsmaterial der verschiedenen Fettsäuren dürften Aminosäuren in Frage kommen, aus welchen durch Desamidierung die entsprechenden Fettsäuren entstehen. Dieser Vorgang tritt hauptsächlich bei Monoaminosäuren auf, z. B.:



Das Auftreten der Buttersäure beobachtet man fast immer in Sauerfutter, welches durch unsachgemäße Behandlung, z. B. durch Vorhandensein von Luftlöchern infolge ungleichmäßigen Zusammensetzens, erhalten wurde. In solchen Fällen tritt Eiweißfäulnis auf. Das Wesen derselben besteht in einer primären Hydrolyse der Eiweißkörper und einer sekundären Veränderung der Spaltprodukte, die einmal auf einer Kohlensäureabspaltung, das andere Mal in einer Desamidierung besteht. So wurde durch *Neuberg* (8) (7) die Bildung der n-Buttersäure durch Fäulnis der Glutaminsäure beobachtet.

$$\underset{\textit{Glutaminsäure}}{COOH{-}CH_2CH_2CH(NH_2)COOH} \longrightarrow \underset{\textit{Buttersäure}}{COOH{-}CH_2CH_2CH_3}$$

In orientierenden Versuchen ist es uns gelungen, aus den Silosäften Aminosäuren zu isolieren. In einem Falle gelang die Darstellung von *Valin* und *Leucin*. Dieselben wurden zunächst als Kupfersalze isoliert. Das Valinkupfer wurde als blauviolette Blättchen erhalten und nachstehender Kupfergehalt gefunden:

0,2146 g ergaben 0,0574 g CuO.
0,0828 g „ 0,0222 g CuO.
Berechnet für $(C_5H_{10}NO_2)_2Cu$ = 21,49% Cu.
Gefunden: 21,39% Cu.
21,43% Cu.

Das Leucinkupfer zeigte die bekannte blaßblaue, fast weiße Farbe.

0,0838 g ergaben 0,0210 g CuO.
Berechnet für $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$ = 19,64% Cu.
Gefunden: 20,49% Cu.

Es sind Versuche im Gange, welche sich mit dem Nachweis weiterer Eiweißabbauprodukte in Sauerfutter beschäftigen. Bei der Extraktion des Rückstandes der Wasserdampfdestillation mit Äther hinterblieb nach Abdestillieren desselben eine gelbbraune ölige Masse, welche in Wasser aufgenommen und durch Tierkohle entfärbt wurde. Beim Eindampfen der klaren wässerigen Lösung hinterblieben weiße Kristalle, welche einen Schmelzpunkt von 181 bis 182° C zeigten. Es dürfte also Bernsteinsäure vorgelegen haben. Die Untersuchungen zur Feststellung der nicht flüchtigen Säuren werden fortgesetzt.

Aus kohlehydratreichen Grünfutterstoffen (Zuckerrübenblätter und -köpfe) treten bei der Einsäuerung in Silos oder Gärkammern die gleichen Fettsäuren auf, wie dieselben bei der Einsäuerung von Mais festgestellt wurden. Auch bei der Konservierung eiweißreicher Futterstoffe (Seradella) treten die gleichen niederen Glieder der Fettsäuren auf, doch finden sich auch die höheren Glieder dieser Reihe bis zur Caprinsäure.

Literatur.

1) *Carl Brahm*, diese Zeitschr. **156**, 15 bis 20, 1925; *E. Mangold*, Über die bei der Sauerfutterbereitung auftretenden Säuren. Tagesfragen der Futtermittelversorgung. Dargestellt auf Veranlassung des Reichsministeriums für Ernährung und Landwirtschaft **1**, 98 bis 107, 1925. — 2) *H. Edin* und *E. Sandberg*, Meddelande Nr. 221 fran Centralanstalten för försöksväsendet pa jordbruksomradet Husdjursavdelningen. Nr. 33. Bakteriologiska avdelningen Nr. 26, Stockholm 1922, S. 4 bis 90. — 3) *Georg Wiegner* und *J. Magasanik*, Mitt. a. d. Gebiete d. Lebensmitteluntersuchung u. Hyg. **10**. — 4) *Ernst Mangold* und *Carl Brahm*, Die Futterkonservierung **1**, 5 bis 32, 1927. — 5) *Berthelot*, C. r. **138**, 602 bis 607, 1904. — 6) *W. Palladin*, diese Zeitschr. **18**, 176, 1909. — 7) *C. Neuberg* und *E. Rosenberg*, ebendaselbst **7**, 178, 1908. — 8) *C. Neuberg*, Sitzungsber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wiss., Tagung v. 16. Mai 1907; diese Zeitschr. **13**, 299, 1908.

Über die Rolle des Pankreas bei einigen toxischen Glykämien. I.

Von

A. Bornstein und **R. D. Loewenberg.**

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg (Krankenhaus St. Georg).]

(Eingegangen am 22. April 1927.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Eine große Anzahl von Einzelbeobachtungen haben in der letzten Zeit darauf hingewiesen, daß das Pankreas nicht gleichmäßig Stunde für Stunde die gleichen Insulinmengen sezerniert, sondern daß die innere Sekretion des Organs durch komplizierte Vorrichtungen reguliert wird. Diese Vorrichtungen sind anscheinend teils nervöser, teils hormonaler Natur. Für eine solche Regulation spricht z. B. der folgende Versuch, den *Holm*[1]) vor einiger Zeit in unserem Institut angestellt hat:

Er exstirpierte Hunden das Pankreas und stellte durch intravenöse, kontinuierliche Dauerinjektion den Blutzucker auf ein normales Niveau ein. Dann gab er dem Hunde per os Traubenzucker, und zwar eine Menge, die beim gleichen Hunde vor der Pankreasexstirpation eine in normaler Weise abklingende, alimentäre Glykämie hervorgerufen hatte. Nach der Operation rief dieselbe Zuckermenge aber eine viel höhere und viel länger anhaltende Blutzuckersteigerung hervor, auch dann, wenn durch andauernde intravenöse Insulinzufuhr der Nüchternblutzucker tagelang normal gehalten war. Erst wenn gleichzeitig mit der Zuckergabe die Insulinzufuhr mehrere Stunden verdoppelt wurde, erhielt er eine normale Kurve der alimentären Glykämie. Es geht aus diesen Versuchen und einer Reihe anderer hervor, daß die Blutzuckersteigerung nach Kohlehydratzufuhr eine Vermehrung der Insulinsekretion anregt, und daß ein komplizierter Mechanismus vorhanden ist, der die Sekretion des Insulins den momentanen Bedürfnissen des Organismus anpaßt.

[1]) *Holm*, Arch. f. exper. Pathol. **121**, 368, 1927.

Man kann nun von vornherein mit einer fast an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit annehmen, daß es Gifte geben muß, die die Insulinsekretion herabsetzen oder zeitweise ganz unterdrücken, und die dadurch eine Glykämie hervorrufen. Von einer Reihe von Giften ist angenommen worden, daß sie auf diese Art wirken. Allerdings hat man bisher niemals, soweit uns bekannt ist, ein Gift gefunden, das beim normalen Hunde Glykämie macht, das sich aber beim pankreaslosen Hunde als mit Sicherheit unwirksam erwiesen hätte. Gegen den Schluß, daß dann das betreffende Gift nicht an Pankreas angreife, könnte man jedoch den folgenden Einwand erheben: das Gift könnte zwar doch auf das Pankreas wirken, d. h. es könnte nach Pankreasexstirpation das Gift zunächst den Blutzucker unbeeinflußt lassen; es könnte das Gift aber gleichzeitig noch einen Angriffspunkt an den Nieren besitzen und z. B. die Zuckerschwelle der Nieren erhöhen. Das würde sich beim normalen Tiere nicht geltend machen, wohl aber würde beim pankreaslosen Tiere dann weniger Zucker als vorher durch die Nieren ausgeschieden werden und der Blutzucker müßte ansteigen. Das gleiche würde übrigens auch eintreten, wenn nicht die Zuckerschwelle, sondern überhaupt die Sekretion der Nieren durch das Gift geschädigt würde.

Es gibt verschiedene Arten, wie man diesem Einwand begegnen könnte. Als beste hat sich uns nach anderen Versuchen die oben erwähnte Methode *Holms* bewährt, die in folgender Form angewandt wurde:

Einem Hunde wurde das Pankreas exstirpiert. Nachdem das Tier sich von der Operation erholt hatte, d. h. nach etwa 3 bis 5 Tagen, wurde mit dem Versuch begonnen. Eine Kanüle wurde in eine Beinvene eingebunden und mittels einer Dauertropfeinrichtung kontinuierlich eine Insulinlösung einlaufen gelassen, deren Gehalt von Zeit zu Zeit variiert wurde, bis man die Menge gefunden hatte, mit der sich ein etwa normales Niveau des Blutzuckers dauernd einstellen ließ. Das Insulin war in einer Traubenzuckerlösung aufgelöst; die Zuckermenge wurde so gewählt, daß mindestens der Grundumsatz des Tieres durch den Zucker gedeckt wurde. Diese Maßnahme war notwendig, weil erfahrungsgemäß bei pankreaslosen Hunden die Glykogenvorräte sehr schnell aufgebraucht sind, und wir hoffen konnten, durch gleichzeitige Zuckerinjektion die Glykogendepots wieder etwas zu füllen. Das ist deswegen wichtig, weil die meisten Gifte nur dann eine Glykämie hervorrufen, wenn eine gewisse Menge Glykogen in der Leber ist. Aus dem gleichen Grunde wurden die Tiere auch nach der Operation reichlich mit Kohlehydraten gefüttert und bekamen mehrmals täglich die nötige Insulinmenge subkutan.

Stündlich, manchmal auch halb- oder viertelstündlich wurden Blutproben aus einer Ohrvene entnommen und sofort der Zuckergehalt nach *Hagedorn* bestimmt. Hatte sich ein gleichmäßiger Zuckerspiegel eingestellt, so warteten wir eine Reihe von Stunden, ehe wir das Gift gaben. Man darf diese Vorperiode nicht zu kurz nehmen, aus Gründen, die später genauer erörtert werden sollen; 5 Stunden scheint die kürzeste in Frage kommende Zeit zu sein. Dann wurde das zu untersuchende Gift verabfolgt und der

Effekt abgewartet, eventuell der Versuch nach einigen Stunden nochmals wiederholt.

Im allgemeinen sind diese Versuche sehr anstrengend und zeitraubend. Selten stellt sich ein konstantes Niveau vor 24 Stunden ein, so daß die Versuche meist etwa 36 Stunden dauerten. Wir hätten die Versuchsreihen nicht zur Durchführung bringen können, wenn wir nicht von den technischen Assistentinnen Frl. *Heyer*, Frl. *von Rittersberg*, Frl. *Boothby* und Schwester *Käthe Stümpel* in aufopferungsvoller Weise unterstützt worden wären.

I. Die Parasympathicusglykämie.

Der Begriff der Parasympathicusglykämie wurde von *Bornstein* und *Vogel*[1]) aufgestellt, die entgegen anders lautenden Angaben feststellten, daß die Gifte Pilocarpin, Physostigmin, Cholin, Acetylcholin eine Glykämie hervorrufen, deren Zustandekommen durch Atropin verhindert werden kann.

Auch die im anaphylaktischen Schock auftretende Glykämie ist nach den Angaben von *La Barre*[2]) dieser Gruppe zuzuzählen. So sehr diese Beobachtungen immer wieder, auch von anderen Autoren[3]) bestätigt wurden, so dunkel ist das Wesen dieser Glykämie. Nach den Versuchen von *Bornstein* und *Holm*[4]) hat sie mit den Nebennieren nichts zu tun, nach Versuchen von *Bornstein* und *Griesbach*[5]) an der überlebenden Hundeleber ist auch die Leber als primärer Angriffspunkt der Gifte mit Wahrscheinlichkeit auszuschließen. *Holm*[6]) fand sie auch nach Pankreasexstirpation; gegen den Schluß, daß Veränderungen der Insulinsekretion ebenfalls nicht vorliegen, könnte man den oben (S. 244) besprochenen Einwand machen. So kommt es, daß z. B. *Pollack*[7]) vermutet, die Parasympathicusgifte würden die Insulinsekretion lähmen und so Anlaß zu einer Hypoglykämie geben. Wir glaubten, diese Frage durch unsere Versuche klären zu können.

Ein typisch verlaufender Versuch ist in Abb. 1 wiedergegeben. Dem Hunde war 10 Tage vorher das Pankreas exstirpiert worden, er bekam

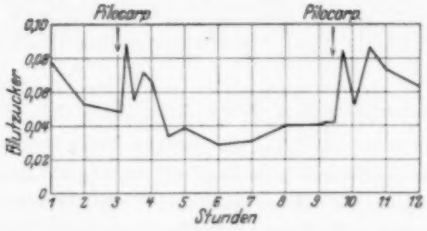


Abb. 1.

[1]) *Bornstein* und *Vogel*, diese Zeitschr. **122**, 274, 1921; **126**, 56, 1921.

[2]) *La Barre*, Arch. f. exper. Pathol. **113**, 368, 1926.

[3]) *Mochizuki*, diese Zeitschr. **150**, 133, 1924; *Farber*, Zeitschr. f. exper. Med. **49**, 524, 1926.

[4]) *Bornstein* und *Holm*, diese Zeitschr. **132**, 138, 1922.

[5]) *Bornstein* und *Griesbach*, Zeitschr. f. exper. Med. **37**, 33, 1923.

[6]) *Holm*, Inaug.-Diss. Hamburg 1921.

[7]) *Pollack*, Ergebn. d. inn. Med.

gleichzeitig die nötige Zuckermenge und eine bestimmte Insulinmenge (stündlich 1,0 Einheit Insulin intravenös durch Dauerinfusion). Die Zuckermenge war so berechnet, daß sie den Grundumsatz des Tieres reichlich deckte. Der Blutzucker war dabei innerhalb von 24 Stunden von 0,34% auf normale Werte gesunken. Es wurde dann Pilocarpin (3 mg pro Kilogramm Tier subkutan) gegeben. Der weitere Verlauf des Versuchs zeigte, daß der Blutzucker noch weiter im Sinken begriffen war; es wurde dann noch 5 Stunden gewartet und abermals die gleiche Menge Pilocarpin gegeben. Beide Male findet sich ein deutlicher Anstieg nach Pilocarpin; derselbe ist besonders deutlich das zweite Mal, da das Ausgangsniveau konstanter geworden war.

Ähnlich verliefen eine Reihe anderer Versuche, z. B.:

Versuch vom 13. März.
Vor Pilocarpin[1]) 0,087%, nach Pilocarpin bis 0,148%.

Versuch vom 26. Februar.
Vor Pilocarpin[1]) 0,051%, nach Pilocarpin bis 0,077%.

Versuch vom 17. Februar.
Vor Pilocarpin[1]) 0,072%, nach Pilocarpin bis 0,120%.

Diese Versuche erweisen eindeutig, daß eine Parasympathicusglykämie in normaler Größenordnung zustande kommt, auch wenn das Pankreas ausgeschaltet ist. Es ist also das Pankreas nicht wesentlich an dieser Form der Glykämie beteiligt.

Zu diesen Versuchen paßt eine Beobachtung sehr gut, die Herr Dr. *Borchardt* vor einiger Zeit in unserem Institut angestellt hat. Um unsere Fragestellung zu beantworten, hatte nämlich Herr Dr. *Borchardt* bei einem pankreaslosen Hunde gleichzeitig Blutzucker und Urinzucker bestimmt. Es zeigte sich in drei Versuchen gleichmäßig, daß mit der Pilocarpinhyperglykämie eine Herabsetzung des Zuckergehalts des Urins eintrat, z. B.

vor Pilocarpin 0,37 g Zucker pro Stunde im Urin,
nach „ 0,02 g „ „ „ „ „

In den beiden anderen Versuchen war überhaupt kein Urinzucker nach Pilocarpininjektion. Anscheinend ist eine hemmende Wirkung des Pilocarpins auf die Zuckerausscheidung im Urin vorhanden[2]) und der retinierte Zucker muß in der Tat den Blutzucker zum Anstieg bringen. Ob diese Retention genügt, um den Blutzuckeranstieg beim

[1]) Mittel aus 5 Stunden.

[2]) Wir möchten keinen allzu großen Wert auf diesen Befund legen; er steht im Widerspruch zu einer Angabe von *Manzini* (Arch. f. exper. Pathol. **114**, 274, 1926), der findet, daß durch Pilocarpin die Zuckerausscheidung der überlebenden Froschniere gesteigert wird.

diabetischen Tiere zu erklären, ist schwierig zu entscheiden. Hierfür ein Beispiel aus Dr. *Borchardts* Versuchen.

Versuch vom 8. September 1924. Hündin, 5,2 kg; am 4. September 1924. Pankreas exstirpiert. Im Urin von

3h10′ bis 4h10′ 0,4 g Zucker. Blutzucker 0,267 %
4 25 2 mg Pilocarp. hydrochl. pro Kilogramm subkutan
4 45 Blutzucker 0,294 %
5 10 Urin 50 ccm zuckerfrei
5 15 Blutzucker 0,323 %

In der Zeit von 4 Uhr 25 Minuten bis 5 Uhr 15 Minuten, d. h. in 50 Minuten wären ohne Pilocarpin 0,33 g Zucker im Urin ausgeschieden worden; diese Menge könnte im Blute ($^1/_{12}$ des Körpergewichts, etwa 400 ccm) zurückgehalten sein. Dadurch würde der Blutzucker um 0,082 % ansteigen; er ist aber nur um 0,323 bis 0,267 = 0,056 % angestiegen; der nicht im Urin ausgeschiedene Zucker würde also mehr als ausreichend sein, um den Blutzuckeranstieg zu erklären.

Nimmt man aber, was sehr viel wahrscheinlicher ist, an, daß der nicht ausgeschiedene Zucker sich nicht nur im Blute, sondern in allen Flüssigkeiten des Körpers befindet, und schätzt man diese Flüssigkeitsmenge auf mindestens 50 % des Körpergewichts = 2600 g, so würden die retinierten 0,33 g Zucker nur einen Blutzuckeranstieg von 0,013 % ausmachen, d. h. der Blutzuckeranstieg nach Pilocarpin am diabetischen Hunde wäre durch veränderte Nierentätigkeit nicht erklärt.

So spricht auch dieser Versuch mit großer Wahrscheinlichkeit für die Unabhängigkeit der Parasympathicusglykämie von Pankreas.

Wir hielten es für erforderlich, durch diese voneinander verschiedenen Methoden die Stellung des Pankreas zur Pilocarpinglykämie zu präzisieren. Wir befinden uns nun aber in einer schwierigen Situation. So häufig wir das Vorhandensein der Parasympathicusglykämie immer und immer wieder nachgewiesen haben, so wenig war es uns bisher möglich, irgend einen Anhaltspunkt über das Entstehen dieser Glykämie zu gewinnen. Am klarsten sind noch die Versuche, in denen sich zeigte, daß die Glykämie mit einem Glykogenschwund der Leber verbunden war. Aber in den Versuchen von *Bornstein* und *Griesbach* konnte ein Einfluß des Pilocarpins auf die Zuckerabgabe der überlebenden Leber nicht gefunden werden. Es lag daher die Annahme nahe, daß die Glykogenabnahme nur indirekt, also etwa durch den Einfluß des Pilocarpins auf irgendwelche Hormone gefördert würde. Demgegenüber wissen wir durch die Versuche von *Bornstein* und *Holm*, daß Nebennierenexstirpation die Pilocarpinwirkung nicht hindert; aus unseren eben beschriebenen Beobachtungen geht hervor, daß auch das Pankreas ohne Einfluß ist. Die beiden wichtigsten Hormone des Zuckerstoffwechsels, Insulin und Adrenalin, haben demnach mit der Parasympathicusglykämie nichts zu tun. So erscheint es nötig, die Frage später von neuen Gesichtspunkten aus nochmals aufzurollen.

II. Narkoseglykämie.

Vor einiger Zeit hatte in unserem Institut *Bertram*[1]) die Entstehung der allgemein gefundenen Narkosehyperglykämie zu analysieren unternommen; er fand dabei, daß sie weder als Parasympathicus- noch als Sympathicusglykämie erklärt werden kann, vielmehr faßt er sie als komplexe Hyperglykämieform auf, bei der er zwar eine Mitwirkung des Pankreas nicht beweisen konnte, aber doch durchaus für möglich hielt.

In dieser Frage mußten nun Versuche am pankreaslosen Infusionshund einen tieferen Einblick gewähren. Über die Technik der Methode ist in den vorhergehenden Abschnitten bereits das Notwendige gesagt worden. Es war von vornherein nicht ohne weiteres ein Ergebnis vorauszusagen, zumal auch beim diabetischen Hunde trotz der Dextrose-Insulininfusion möglicherweise mit einer gewissen Glykogenverarmung der Leber zu rechnen ist. Die durch eine erste Narkose erzeugte Glykogenarmut konnte *Bertram* ja in seinen Versuchen dafür verantwortlich machen, daß eine zweite Narkose zu einer bedeutend geringeren Hyperglykämie führt. Trotzdem ergaben aber Chloroformnarkosen an unseren eingestellten Infusionshunden die fast normal anmutende Blutzuckererhöhung, wie folgende Vergleichszahlen zeigen:

Tabelle I.

Pankreatektomierter Hund.

		Blutzucker %
9h00′	morgens Insulindextrose 20 ccm pro Stunde einer Lösung von 6 Einheiten Insulin + 27,0 Dextrose in 120 Wasser = 1,0 Einheiten, Insulin 4,5 g, Dextrose in 1 Stunde . . .	0,331
9 00	abends	0,179
9 00	morgens	0,049
10 00	„	0,040
11 00	„	0,079
11 06	„ Beginn der Chloroformnarkose	
11 15	„	0,098
11 30	„ Ende der Narkose	
11 30	„	0,097
11 45	„	0,087
12 00	„	0,086
12 30	nachmittags	0,058
3 00	„	0,054
3 08	„ Beginn der Chloroformnarkose	
3 15	„	0,087
3 30	„ Narkose ab	0,084
3 45	„	0,091
4 00	„	0,096
4 30	„	0,059
5 00	„	0,068

[1]) Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **37**, 99, 1923.

Also beidemal von einem relativ normierten Blutzuckerniveau ein deutlicher Anstieg als Folge der Narkose, besonders das zweite Mal, wo die Blutzuckerwerte von 0,054% auf 0,096% ansteigen. So darf man hiernach als sicher behaupten, daß die Quelle für diese Hyperglykämie zum mindesten zu einem sehr wesentlichen Teile unabhängig vom Pankreas ist. Es wäre durchaus denkbar, daß bei einer glykogenreicheren Leber der Ausschlag noch beträchtlicher sein würde. Nehmen wir hinzu, daß *Bertram* auch noch nach Nebennierenexstirpation eine wenn auch nur geringe Narkosehyperglykämie fand, so ergibt sich das nicht vorauszusehende Ergebnis, daß auch nach Ausfall der für den Kohlehydratstoffwechsel wichtigsten Organe, der Nebenniere und des Pankreas, doch noch die Narkose den Blutzucker ansteigen läßt; daß wir also noch mit wichtigen Faktoren zu rechnen haben, die außerhalb der bisher bekannten innersekretorischen Beziehungen auf die Blutzuckerregulation einwirken können.

III. Ergotaminversuche.

Eine weitere Frage, die wir am pankreaslosen Infusionshund untersuchten, galt der Einwirkung des Ergotamins auf den Nüchternblutzucker. An anderer Stelle von uns veröffentlichte Versuche[1]) hatten ergeben, daß Ergotamin beim Hunde den Nüchternblutzucker und die alimentäre Glykämie nicht beeinflußt, während beim Menschen in unseren Versuchen die Blutzuckerkurve zwar gehemmt, d. h. abgeschwächt und verzögert wurde, nicht aber aufgehoben, wie einige Autoren feststellten (*Hétenyi* und *Pogany*, sowie *Grunke*).

Nun galt es aber noch, die Vorfrage genauer zu analysieren. In Übereinstimmung mit den meisten Autoren lehnten wir eine Einwirkung des Ergotamins auf den Nüchternblutzucker ab. Immerhin glaubten *Lesser* und *Zipf* eine Senkung gefunden zu haben. Ähnliche Erwägungen, wie sie in den vorherigen Abschnitten angestellt wurden, waren auch hier zu beobachten.

Wenn auch am normalen Hunde Ergotamin keinen sichtbaren Einfluß ausübt, so könnte das auch auf einem sich aufhebenden Wechselspiel beruhen. Es wäre z. B. denkbar, daß eine Nebennierenwirkung im Sinne einer Adrenalinhemmung deshalb nicht zu der zu erwartenden Blutzuckersenkung führte, weil vielleicht gleichzeitig auch die Insulinproduktion nachlassen könnte. Wissen wir doch [z. B. aus den Untersuchungen von *Poll*[2]) und *Tscheboksaroff*[3])], daß solche gegenseitigen

[1]) *Loewenberg*, Zeitschr. f. exper. Med. 1927, im Erscheinen begriffen; dort auch ältere Literatur.

[2]) *Poll*, Med. Klinik 1925, S. 1717.

[3]) *Tscheboksaroff* und *Malkin*, Zeitschr. f. exper. Med. **47**, 580, 1925.

Beziehungen zwischen Adrenalin- und Insulinsekretion bestehen. Wäre diese Überlegung richtig, so müßte an unserem Dauerinfusionshund eine Senkung des Blutzuckers nach Ergotamininjektion eintreten. Das ist aber nun nicht der Fall, wie folgende Zahlen zeigen:

Tabelle II.

13. Dezember 1926.

Zeit	Blutzucker %	Zeit	Blutzucker %
1h30′	0,070	1h00′	0,055
2 00	0,069	2 00	0,062
2 15	0,33 ccm Gynergen		0,33 ccm Gynergen
2 30	0,074	2 30	0,053
3 00	0,053	3 00	0,054
3 30	0,055		
4 00	0,050		

Tabelle III.

4. Februar 1927. Hund 6,9 kg.

Zeit	Blutzucker %	Zeit	Blutzucker %
7h15′	0,049	2h15′	0,072
8 15	0,062	3 00	0,067
9 02	0,058	3 30	0,33 ccm Gynergen
	0,33 ccm Gynergen	4 00	0,076
9 30	0,070	5 00	0,074
10 02	0,049	6 00	0,072
10 30	0,068		
11 00	0,065	11 00	0,067
		12 00	0,064
			0,33 ccm Gynergen
		1 00	0,073
		2 00	0,077
		3 00	0,080

Diese fünf Versuche beweisen wohl, wie wir glauben, daß auch am pankreaslosen Hunde von einer Senkung des Blutzuckers nicht gesprochen werden kann. Wir wissen nun, daß die Wirkung des Adrenalins auf die Zuckerabgabe der Leber durch Ergotamin gehemmt werden kann. Senkt nun das Ergotamin an unserem Hunde den Blutzucker nicht, so werden wir aus unseren Versuchen schließen können, daß *normalerweise die von der Nebenniere in die Blutbahn sezernierte Adrenalinmenge nicht so groß ist, daß sie einen merklichen Einfluß auf den normalen Blutzucker hat.* Sie lassen aber auch erkennen, daß die Deutung pharmakologischer Wirkungen auf den Blutzucker keineswegs sich auf das System Nebenniere—Pankreas beschränken darf, oder

gar auf den landläufig angenommenen Antagonismus im vegetativen Nervensystem. Das beweisen auch die gewissermaßen entsprechenden Versuche von *Bornstein* und *Holm*[1]), welche am pankreasdiabetischen Hunde (ohne Dauerinfusion!) gleichfalls die theoretisch vermutete Blutzuckersenkung nach Ergotamin vermißten.

Aus unseren Versuchsreihen ergibt sich also das überraschende Ergebnis: *Der Blutzucker verhält sich nach Pilocarpin, nach Narkose und nach Ergotamin gleichsinnig am normalen und am pankreaslosen Hunde, dem dauernd Insulin und Traubenzucker intravenös infundiert wird. Sowohl die Pilocarpin- wie die Narkoseglykämie sind im wesentlichen vom Pankreas unabhängig.*

[1]) *Bornstein* und *Holm*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **37**, 5, 1923.

Versuche
über den Einfluß des Geschlechts auf die Alkoholwirkung.

Von

Emil Abderhalden und **Ernst Wertheimer.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle.)

(Eingegangen am 27. April 1927.)

In einer Reihe früherer Mitteilungen[1]) haben wir den Nachweis erbracht, daß der tierische Organismus, je nach der Art der aufgenommenen Nahrung, die parenterale Zufuhr von Inkretstoffen ganz verschieden beantwortet und auch sonst in vieler Hinsicht Reaktionen zeigt, die mit aller Deutlichkeit dartun, daß er in einem viel größeren Ausmaß durch äußere Einwirkungen beeinflußbar ist, als man im allgemeinen anzunehmen geneigt war. Es erschien uns von Interesse, an Hand bestimmter Fragestellungen zu prüfen, wie ein und dieselbe Tierart, die unter genau den gleichen Bedingungen der Ernährung und des gesamten äußeren Milieus steht, sich verhält, wenn ihr Organismus unter dem Einfluß verschiedener von innen heraus geschaffener Bedingungen steht. Der gegebene Fall ist die Prüfung verschieden geschlechtiger Organismen. Bei Versuchen, die zum Ziele hatten, den Einfluß *chronischer Alkoholvergiftung* auf die Nachkommenschaft zu untersuchen, wobei wir einerseits den Weibchen und andererseits den Männchen Alkohol parenteral zuführten und dann die mit Alkohol vergifteten Tiere teils unter sich, teils mit nicht mit Alkohol behandelten Tieren zur Fortpflanzung brachten, beobachteten wir mit großer Regelmäßigkeit, *daß die Männchen und Weibchen — als Versuchstiere dienten Mäuse — eine ganz verschiedene Widerstandsfähigkeit gegen Alkohol zeigten.* Von 50 Männchen, die täglich 0,1 bis 0,2 ccm 30 % Äthylalkohol subkutan zugeführt erhielten, starben innerhalb von 14 Tagen 42, während von 50 Weibchen in der gleichen Zeit nur 15 zugrunde gingen.

[1]) *Emil Abderhalden* und *Ernst Wertheimer*, Pflügers Arch. **205**, 559, 1924; **206**, 451, 460, 1924; **207**, 215, 1925; **209**, 611, 1925; **213**, 321, 1926; **216**, 396, 1927.

Ferner ist bemerkenswert, daß schon nach viertägiger Zufuhr von Äthylalkohol die ersten Männchen starben, während das erste Weibchen am neunten Tage der Alkoholzufuhr zugrunde ging. Ein Teil der Versuchstiere wurde vor und nach der Alkoholzufuhr bei etwa 30° Außentemperatur gehalten, um zu prüfen, ob der Abfall der Körpertemperatur, der der Alkoholzufuhr folgt, in Beziehung zum Tode steht. Es blieb das Verhältnis zwischen den Sterbefällen bei den Männchen und Weibchen ungefähr gleich. Wir haben diese Beobachtung, die zunächst eine nur zufällige war, systematisch weiter verfolgt, und zwar benutzten wir die gleiche Tierart, nämlich Mäuse, wie bei den schon erwähnten Versuchen. *Wir fanden wiederum, daß die weiblichen Tiere zum größeren Teile viel widerstandsfähiger gegen die chronische Alkoholvergiftung waren als die männlichen Tiere.* Wir beabsichtigen, diesen Befund nach verschiedenen Richtungen weiter zu verfolgen. So haben wir z. B. bei zwei Weibchen, die seit 7 Tagen kastriert waren, feststellen können, daß die erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen die chronische Alkoholvergiftung anhielt. Dieser Versuch muß selbstverständlich erweitert werden. Ferner beabsichtigen wir, Weibchen unter den Einfluß männlicher Geschlechtsdrüsen und umgekehrt Männchen unter den von Inkretstoffen der Ovarien zu setzen, um zu prüfen, ob sich ein Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit gegenüber der chronischen Alkoholvergiftung nachweisen läßt. Bemerkt sei, daß bei akuter Alkohol- und auch Äthervergiftung in Hinsicht auf die Widerstandsfähigkeit sich kein bestimmter Einfluß des Geschlechts nachweisen ließ. Im folgenden seien die Ergebnisse einiger der ausgeführten Versuche als Beispiele wiedergegeben.

Versuchsprotokolle.

Zu unseren Versuchen benutzten wir Mäuse eigener Zucht, die vorher ganz gleichmäßig gehalten wurden. Zu den Versuchsgruppen suchten wir Tiere aus, die im Gewicht und auch sonst möglichst gleichartig waren. Vier Weibchen und vier Männchen bildeten je eine Gruppe. Wir injizierten immer 30% Äthylalkohol subkutan. Sehr bald nach der Injektion trat eine längerdauernde Narkose ein, die bei Wiederholung der Injektionen stärker wurde und dann meist bei Männchen ausgeprägter war, als bei Weibchen. Uns kam vor allem darauf an, festzustellen, wann die tödliche Wirkung eintrat. Dabei ergab sich folgendes:

Datum		Weibchen	Männchen
Gruppe I. 4 Weibchen und 4 Männchen. Gewicht: 16 bis 18 g.			
5. I.	Beginn der Injektionen		
6. I.	je 0,2 ccm täglich	1 + bei der Injektion	
8. I.			1 +
14. I.			1 +
16. I.			2 +
18. I.		3 leben noch	

Datum		Weibchen	Männchen
	Gruppe II. 4 Weibchen und 4 Männchen. Gewicht: 16 bis 20 g.		
18. I.	Beginn der Injektionen		
31. I.	je 0,2 ccm täglich		1 +
2. II.		1 +	2 +
3. II.			1 +
5. II.		3 leben noch	
	Gruppe III. 4 Weibchen und 4 Männchen. Gewicht: 20 g.		
7. II.	Beginn der Injektionen		
15. II.	je 0,25 ccm täglich		1 +
20. II.			
26. II.			1 +
27. II.		2 +	1 +
28. II.		2 +	1 +
	Gruppe IV. 4 Weibchen und 4 Männchen. Gewicht: 19 bis 22 g.		
24. II.	Beginn der Injektionen		
1. III.	je 0,25 und 0,3 ccm tägl.		1 +
2. III.			1 +
3. III.			1 +
5. III.			1 +
8. III.		4 leben noch	
	Gruppe V. 3 Weibchen und 3 Männchen. Gewicht: 21 bis 22 g.		
14. III.	Beginn der Injektionen		
21. III.	je 0,25 ccm täglich		1 +
23. III.			1 +
26. III.			1 +
30. III.		3 leben noch	
	Gruppe VI. 3 Weibchen (davon 2 kastriert) und 3 Männchen. Gewicht: 18 bis 21 g.		
21. III.	Beginn der Injektionen		
28. III.			1 +
31. III.			1 +
2. IV.			1 +
4. IV.		3 leben noch	
6. IV.			

Es kam vor, daß Tiere, wahrscheinlich infolge Einspritzung des Alkohols in die Blutbahn, unmittelbar im Anschluß an die Alkoholzufuhr zugrunde gingen. Solche Fälle wurden in den Ergebnissen nicht mit berücksichtigt.

Zusammenfassung.

Weibliche Mäuse sind gegen chronische Alkoholvergiftung resistenter als männliche.

Der Nachweis des antirachitischen Faktors bei im Dunkeln und hinter Fensterglas gewachsenen Gräsern.

Von

W. Völtz und W. Kirsch.

(Aus dem Tierzucht-Institut der Albertus-Universität Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 29. April 1927.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Nach den bekannten Untersuchungen von *Windaus* u. a. aus letzter Zeit scheint jede antirachitische Wirksamkeit sich als Folge der Einwirkung von ultravioletten Strahlen auf provitamin-(ergosterin-?)haltiges Material zu erklären. Das dabei entstehende Umlagerungsprodukt ist nach *Windaus* (1) und *Pohl* (2) das eigentliche antirachitische Vitamin.

Immerhin erschien es nicht von vornherein ausgeschlossen, daß das wirksame Prinzip auch ohne Einwirkung ultravioletter Strahlen dafür entstehen könnte. Um diese Auffassung zu prüfen, wurde Gras bei Ausschluß ultravioletter Strahlen angebaut und an Ratten, die experimentell rachitisch gemacht worden waren, auf seine Wirksamkeit geprüft.

Versuche.

I.

Durch den ersten Versuch sollte ermittelt werden, ob und in welchem Umfange Gras, das hinter gewöhnlichem Fensterglas gewachsen ist, antirachitische Eigenschaften besitzt.

Es wurde Samen von Lolium perenne in großen, mit Gartenerde gefüllten Tonschalen ausgesät. Diese Schalen wurden hinter den Fenstern (Doppelscheiben) eines geheizten Raumes aufgestellt[1]). Die Fenster, an denen das Gras stand, blieben dauernd geschlossen. Das Gras wuchs ziemlich rasch, ergrünte und war nach 4 bis 5 Wochen in genügend großer Menge vorhanden, um mit den Versuchen beginnen

[1]) Die Versuche wurden im Winter durchgeführt.

zu können. Es wurde an rachitische Ratten verfüttert, die eine 24tägige Vorperiode auf der Rachitis-erzeugenden Diät von Mc Collum 3143 hinter sich hatten und bei denen röntgenographisch das Vorhandensein von Rachitis festgestellt worden war[1]). Um bei der beschränkten Substanzmenge die Versuche möglichst rasch durchzuführen, kamen nur Heilversuche in Frage. Die Ratten wurden in zwei Gruppen zu je vier Tieren geteilt, von denen die eine Gruppe Gras als Zusatz zur Grundkost erhielt, die andere als Kontrollgruppe diente, also nur die Mc Collum-Kost bekam. Das Gras wurde 8 Tage lang zugegeben, und zwar erhielten zwei Tiere täglich 3 g, zwei Tiere 6 g. Um das Gras genau dosieren zu können und um die quantitative Aufnahme zu gewährleisten, wurde es in frischem Zustande gemahlen. Die gemahlene Masse wurde im Eisschrank aufbewahrt. Die Ratten nahmen das Gras, das ihnen in einem besonderen Schälchen morgens nüchtern vorgesetzt wurde, sehr gern und stets quantitativ auf. Nach 8 Tagen wurden die Tiere wieder röntgenphotographiert.

Das Ergebnis ist eindeutig: Die Tiere, die 3 g bzw. 6 g Gras erhalten hatten (Trockensubstanzgehalt des Grases 13,5%), zeigen deutliche Heilvorgänge, während bei den Kontrollen die Rachitis schwerer geworden oder unverändert stark geblieben ist (s. Tabelle I).

Tabelle I.

Heilversuch an rachitischen Ratten mit Gras (Lolium perenne), das hinter Fensterglas gewachsen war.

Vorfütterung mit Rachitiskost McCollum Nr. 3143: 24 Tage.

Graszusatz: 8 Tage.

Ratte Nr.	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Röntgenbefund am Ende der Vorperiode	Zusatz zur Grundkost	Art und Behandlung des Zusatzes	Röntgenbefund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
1	37	52	schwere Rachitis	3 g Gras	Gras hinter gewöhnl. Fensterglas gewachsen und ergrünt	fast geheilt	
2	37	52	dasselbe	3 g „	dasselbe	noch leichte Rachitis mit Heilvorgängen	
3	33	48	„	6 g „	„	deutliche Heilvorgänge	
4	33	47	mäßige Rachitis	6 g „	„	noch leichte Rachitis mit Heilvorgängen	

[1]) Die röntgenphotographischen Aufnahmen und die Rachitisdiagnose wurden in Gemeinschaft mit Dr. med. *C. Falkenheim* an der Universitäts-Kinderklinik zu Königsberg i. Pr. ausgeführt.

Tabelle I (Fortsetzung).

Ratte Nr.	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Röntgenbefund am Ende der Vorperiode	Zusatz zur Grundkost	Art und Behandlung des Zusatzes	Röntgenbefund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
			Kontrolltiere.				
5	33	38	schwere Rachitis	—	—	sehr schwere Rachitis	keine Heilvorgänge
6	33	44	dasselbe	—	—	schwere Rachitis	
7	35	43	leichte Rachitis	—	—	mäß. Rachitis	
8	35	46	dasselbe	—	—	leichte Rachitis	

II.

In einem zweiten Versuch wurde Gras geprüft, das in einem vom Tageslicht abgeschlossenen Raume gewachsen war, der nur wenige Male täglich elektrisch erleuchtet wurde. In diesem Raume stand eine Heizanlage; in der Nähe des in Tätigkeit befindlichen Heizkessels wurden mit Gartenerde gefüllte Holzkästen aufgestellt und dasselbe Gras angesät wie in Versuch I. Es wuchs ziemlich langsam und war völlig „etioliert". Als es sich umzulegen begann, wurde es mit einer Schere abgeschnitten, wobei darauf geachtet wurde, daß keine Erdpartikelchen an ihm haften blieben, weil in einem Teile des Grases der Ca- und P-Gehalt bestimmt werden sollte.

Der Rattenversuch wurde wie bei I durchgeführt. Auch dieses Gras wurde quantitativ von den Ratten aufgenommen. Die Vorperiode dauerte 20 Tage. Die von jeder Ratte verzehrte Grundfuttermenge wurde quantitativ festgestellt. Bei der ersten Röntgenaufnahme am Ende der Vorfütterungsperiode wurden aus äußeren Gründen die Tiere 206, 201, 202 nicht mitphotographiert. Die fünf übrigen zeigten, wie nicht anders zu erwarten, schwere Rachitis. Die zweite Röntgenaufnahme am achten Tage der Zufütterung des etiolierten Grases, die sich auf alle Tiere erstreckte, hatte wiederum ein eindeutiges Ergebnis: Die vier Ratten, welche 2,5 bzw. 5 g etioliertes Gras erhalten hatten, zeigten zum Teil sehr weit vorgeschrittene Heilvorgänge, die vier Kontrolltiere sehr schwere Rachitis (s. Tabelle II). Eine dritte Aufnahme nach 14 Tagen der Zufütterung des etiolierten Grases zeigte im wesentlichen das gleiche Bild. Bemerkenswert ist allerdings, daß bei den beiden Ratten mit der geringen Gabe von 2,5 g Gras die im ersten Röntgenbild nachgewiesenen sehr starken Heilvorgänge etwas zurückgegangen, während sie bei den Tieren mit 5 g Gras deutlich weiter fortgeschritten waren. Bei allen Kontrollen ist die Rachitis sehr schwer geblieben oder noch schwerer geworden. Hieraus ergibt

Tabelle II.

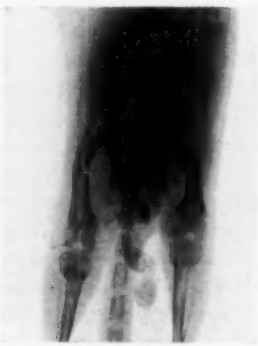
Heilversuch an rachitischen Ratten mit Gras (Lolium perenne), das im dunklen Raume gewachsen war.

Vorfütterung mit Rachitiskost McCollum Nr. 3143: 20 Tage.

Graszusatz: 14 Tage.

Ratte Nr.	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Röntgenbefund am Ende der Vorperiode	Zusatz zur Grundkost	Art und Behandlung des Zusatzes	Röntgenbefund nach 8 Tagen	Röntgenbefund nach 14 Tagen
206	45	50	mäßige Rachitis	2,5 g Gras	Gras im dunklen Raume gewachsen (etioliert)	fast geheilt	Heilung etwas zurückgegangen
208	44	53	schwere Rachitis	2,5 g „	dasselbe	„ „	dasselbe
211	61	67	dasselbe	5 g „	„	schwere Rachitis	deutliche Heilung
204	54	62	—	5 g „	„	deutliche Heilung	fortschreit. Heilung
				Kontrolltiere.			
201	83	92	—	—	—	sehr schwere Rachitis	sehr schwere Rachitis
202	68	67	—	—	—	dasselbe	dasselbe
213	65	70	schwere Rachitis	—	—	„	„
212	54	61	dasselbe	—	—	„	„

Bei Versuchsbeginn: Schwere Rachitis.

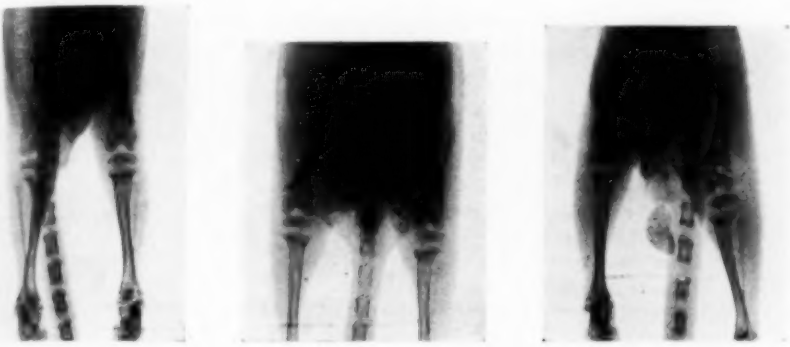


Nach 8 Tagen: Starke Heilung.

Nach 14 Tagen: Heilung etwas zurückgegang

Abb. 1.

Ratte Nr. 208. Zusatz zur Grundkost 2,5 g Gras täglich.



Bei Versuchsbeginn: Schwere Rachitis.

Nach 8 Tagen: Sehr schwere Rachitis.

Nach 14 Tagen: Sehr schwere Rachitis.

Abb. 2.
Kontrollratte Nr. 212. Nur Grundkost.

sich der Schluß, daß 2,5 g des etiolierten Grases (Trockensubstanzgehalt 11,96 %) noch nicht völlig ausreichen, um die Rachitis zu heilen, wohl aber die doppelte Menge von 5 g.

III.

Die vorstehend beschriebenen Versuche wurden durch einen dritten ergänzt: Es sollte festgestellt werden, ob die Samenmenge, die 2,5 bzw. 5 g Gras entspricht, die gleiche antirachitische Wirkung ausübt wie das Gras selbst. Da sowohl das grüne wie das etiolierte Gras in einem so jungen Zustande geschnitten wurde, daß noch keine Bestockung eingetreten war, so entsprach jeder Halm einem Samenkorn. Es wurden demgemäß die Grashalme aus 2,5 g Gras (bzw. 5 g) ausgezählt: In 2,5 g Gras waren enthalten 320 bis 380 Hälmchen (Mittel 360). Dementsprechend wurden — 100 % Keimfähigkeit vorausgesetzt — 360 Samenkörner ausgezählt; sie wogen 0,70 bis 0,73 g. Da sich vereinzelt Spelzen und taube Körner unter den Samen befanden, wurden entsprechend 2,5 g (bzw. 5 g) etioliertem Grase 0,75 g (bzw. 1,5 g) Grassamen an die Ratten verfüttert. Die Ratten, die 14 Tage[1]) auf der *Mc Collum*schen Grundkost 3143 gehalten waren, zeigten bei Beginn der Samenzufütterung im Röntgenbild schwere

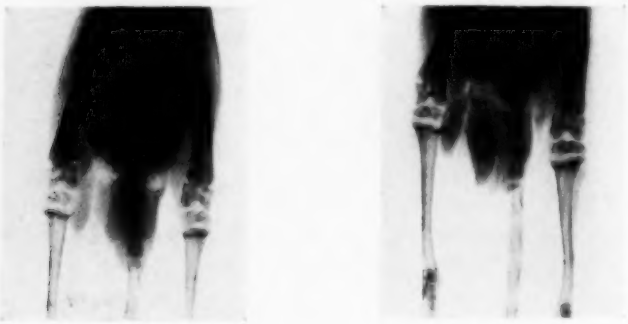
[1]) Bei unseren zahlreichen Rachitisversuchen haben wir die Beobachtung gemacht, daß junge wachsende Ratten, auf einer geeigneten Grunddiät gehalten, sehr rasch, mitunter schon in 6 Tagen, schwer rachitisch werden.

Rachitis. Sie erhielten 9 Tage Grassamen, und zwar zwei Tiere je 0,75 g täglich, zwei Tiere je 1,5 g täglich, zwei Tiere dienten zur Kontrolle. Der Grassamen wurde gemahlen und mit wenig Grundfutter vermischt den Ratten vorgesetzt. Wenn sie die Näpfe geleert hatten, was sehr bald geschehen war, da die Tiere absichtlich etwas knappe

Tabelle III.

Heilversuch an rachitischen Ratten mit dem Samen von Lolium perenne.
Vorfütterung mit Rachitiskost McCollum Nr. 3143: 14 Tage.
Zusatz von Grassamen: 9 Tage.

Ratte Nr.	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Röntgenbefund am Ende der Vorperiode	Zusatz zur Grundkost	Art und Behandlung des Zusatzes	Röntgenbefund am Ende des Versuchs	Bemerkungen
314	59	66	schwere Rachitis	0,75 g Grassamen	Grassamen entsprechend 2,5 oder 5 g etioliertem Gras	sehr schwere Rachitis	stärker werdend
315	79	75	Dasselbe	0,75 g Grassamen	dasselbe	schwere Rachitis	gleich geblieben
316	65	68	„	1,5 g Grassamen	„	dasselbe	dasselbe
318	69	69	„	1,5 g Grassamen	„	sehr schwere Rachitis	stärker werdend
				Kontrolltiere.			
307	62	63	schwere Rachitis	—	—	sehr schwere Rachitis	stärker werdend
308	62	64	dasselbe	—	—	dasselbe	dasselbe



Bei Versuchsbeginn: Sehr schwere Rachitis.

Nach 9 Tagen: Sehr schwere Rachitis.

Abb. 3.

Ratte Nr. 315. Zusatz zur Grundkost 0,75 g Samen.

Rationen erhielten, bekamen sie weiteres Futter. Der Futterverzehr wurde festgestellt.

Am neunten Tage ergab die Röntgenaufnahme, daß die Rachitis schwerer geworden, bei zwei Tieren unverändert schwer geblieben war.

Die relativ hohe Gabe von 1,5 g lieferte gegenüber der halben Dosis das gleiche Bild schwerster Rachitis, so daß in diesen Grassamenmengen keine Spur von antirachitischem Vitamin vorhanden sein konnte (s. Tabelle III).

Besprechung der Versuche.

Das im ersten Versuch verfütterte Gras war hinter gewöhnlichem Fensterglas gewachsen. Bekanntlich läßt gewöhnliches Fensterglas nicht die wirksamen Strahlen, die für die Aktivierung des Provitamins in Frage kommen würden — also dem Wellenbereich von 280 bis 300 $\mu\mu$ angehören — hindurch. Trotzdem entfaltet das Gras eine recht intensive Rachitis-heilende Wirkung, die der von frischem unter natürlichen Bedingungen gewachsenen Gras nicht nachsteht. Wir haben unter anderem ein sehr spät gemähtes Gras (dritter Schnitt, Anfang November), das zum Teil unter einer vorübergehenden Schneedecke braun geworden war und sicher nicht sehr viel direktes Sonnenlicht erhalten hatte, auf seine antirachitischen Eigenschaften geprüft. Dieses Gras erwies sich ebenfalls als stark antirachitisch wirksam [1]). Es schien nach dem Ausfall des ersten Versuches, als ob nicht nur die ultravioletten Strahlen, sondern noch andere Komponenten des Lichtes an der Entstehung der antirachitischen Eigenschaften beteiligt sein müssen. Es wurde daher, um das gesamte Licht auszuschalten, Gras untersucht, das im dunklen Raume gewachsen war. Auch dieses Gras entfaltete, wie aus Versuch 2 hervorgeht, antirachitische Wirksamkeit. Dieses Ergebnis führt zu dem Schluß, daß es noch andere Ursachen für die Entstehung von antirachitischem Vitamin geben muß als Lichtstrahlen.

Um nicht den Fehler zu machen, auf den erst neuerdings wieder *Mc Collum* (3) aufmerksam macht und über den wir uns schon in früheren Versuchen Rechenschaft gegeben haben, nämlich mit der verabreichten Grasmenge gleichzeitig so viel P zuzuführen, daß die Rachitis erzeugende Wirkung der Kost 3143, die ja in erster Linie auf ihrem geringen P-Gehalt beruht, aufgehoben wird, wurde gewichtsanalytisch der Ca- und P-Gehalt [2]) des etiolierten Grases bestimmt.

[1]) Über die Versuche wird an anderer Stelle berichtet werden.

[2]) Ca- und P-Bestimmung nach *R. Berg*, Methodik der chemischen Stoffwechselversuche in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Abt. IV, **9**, 772 und 793.

Da ferner die Tagesration an Grundfutter festgestellt worden war, konnte berechnet werden, in welchen Grenzen das Ca : P-Verhältnis der *Mc Collum*schen Kost zugunsten des P verschoben wurde. Die Tiere verzehrten ziemlich gleichmäßig in allen drei Versuchen durchschnittlich 8 g Rachitisfutter, bei einem Tiere in dem Versuch mit dem etiolierten Grase sank die Futteraufnahme einige Tage auf 5 g. In 100 Teilen des *Mc Collum*schen Futters sind enthalten 1,231 Ca und 0,301 P. In 100 Teilen des frischen etiolierten Grases wurden gefunden 0,21 CaO und 0,23 P_2O_5. Wird aus diesen Zahlen die Ca- und P-Menge berechnet, die eine Ratte im ungünstigsten Falle mit 5 g Rachitisfutter und 5 g etioliertem Grase aufnimmt, so tritt eine Verschiebung des Ca : P-Verhältnisses von 4 Ca : 1 P in 3,5 Ca : 1 P ein.

Im übrigen muß darauf hingewiesen werden, daß diese Zahlen sich nur auf die Rohnährstoffe beziehen, während es darauf ankommt, ob das Verhältnis des resorbierbaren Ca- und P-Anteils wesentlich verschoben wird. Untersuchungen von *Boas* und *Chick* (4) haben ergeben, daß ein Verhältnis von 3,5 Ca zu 1 P ausreichend ist, um die Rachitis-erzeugende Wirkung des *Mc Collum*schen Futters zu gewährleisten.

Die Heilvorgänge, die bei einer Zufütterung von 5 g etioliertem Gras beobachtet wurden, können also nicht auf den P-Gehalt dieses Grases zurückgeführt werden.

Es war beabsichtigt worden, außer der gewählten Versuchsanstellung noch eine solche durchzuführen, bei der für ultraviolettes Licht angeblich durchlässige Glasscheiben, wie sie heute verschiedentlich in den Handel gebracht werden, zu prüfen. Der Ausfall der mitgeteilten Versuchsergebnisse läßt die geplanten Versuche, wenn auch nicht aussichtslos, so doch einigermaßen überflüssig erscheinen, da trotz des für die aktiven Strahlen undurchlässigen Fensterglases wachsende Gräser erhebliche Mengen an antirachitischem Vitamin bildeten; allenfalls wären quantitative Unterschiede zu erwarten.

Zusammenfassung.

1. Grassamen (Lolium perenne) enthält den antirachitischen Faktor nicht.

2. Keimpflanzen aus demselben Grassamen sind antirachitisch wirksam,

a) wenn sie hinter Fensterglas gewachsen sind;

b) auch in völliger Dunkelheit gewachsenes, also etioliertes Gras vermag die Rachitis zu heilen.

3. Die Auffassung von *Windaus* und Mitarbeitern, daß der antirachitische Faktor nur durch die Bestrahlung eines Provitamins (Ergosterin?) erzeugt wird, kann nach unseren Untersuchungen nicht zutreffen, weil Keimpflanzen auch ohne Bestrahlung mit der künstlichen Höhensonne oder Sonnenlicht in völliger Dunkelheit das antirachitisch wirksame Vitamin bilden.

Literatur.

1) *Windaus*, Chemiker-Zeitung 1927, **12**, 113 bis 114. — 2) *Pohl*, Naturwissenschaften 1927, **20**, 433 bis 438. — 3) *McCollum*, *Simmonds*, *Becker*, *Shipley*, Journ. of biol. Chem. **70**, 437 und 438, 1926. — 4) *Boas* und *Chick*, Biochem. Journ. **18**, 433, 1924.

Ein Beitrag zur Technik des Respirationsversuchs nach J. Geppert und N. Zuntz.

Von

J. Paechtner (München).

(Aus dem Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover.)

(Eingegangen am 29. April 1927.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Die *Zuntz-Geppert*sche Methode des Respirationsversuchs an Menschen und Säugetieren, die trotz aller bedeutsamen Neuerungen nach wie vor ihren Rang auf ihrem Anwendungsgebiet behauptet, darf im Prinzip hier als bekannt vorausgesetzt werden.

So erübrigt es sich auch, ihre mannigfachen Vorzüge hervorzuheben, und ich darf mich darauf beschränken, einige Mängel, die ihr anhaften, und den Versuch ihrer Beseitigung zu erörtern.

Von solchen Mängeln wird auch seitens der Anhänger und Liebhaber dieser Methode, soweit die Technik der Atemmessung in Frage kommt, die Schwierigkeit empfunden, längere Versuchsreihen ohne die mitunter störenden Unterbrechungen auszuführen, welche das Wechseln der Gassammelröhren mit sich bringt, ferner die durch das häufige, meist alle 1 bis 2 Minuten übliche Ablesen und Protokollieren des Gasuhrstandes bedingte Beanspruchung des Versuchsanstellers für Registrierarbeit, welche die richtige Beobachtung des Versuchsobjekts unliebsam behindert, und schließlich die bislang schwierige Ausschaltung von Störungsmomenten im Verhalten des Versuchsobjekts (Körperbewegungen, Husten) und von Zwischenfällen verschiedener Art während eines im Gang befindlichen Versuchs, wodurch nicht selten die Arbeit zwecklos wird, insbesondere bei Versuchen an temperamentvollen Tieren, z. B. Pferden.

Wie beträchtlich gerade dieser letztere Umstand ist, mag aus der folgenden Aufstellung erhellen, in welcher die Mittelwerte einer größeren Anzahl von „Ruheversuchen" an zwei Ponywallachen (Castor und Cajus) verzeichnet sind, die unter sonst tunlichst gleichen Bedingungen im Sommer und im Winter ausgeführt wurden, d. h. mit und ohne die — zur Sommerzeit unvermeidliche — Belästigung der Tiere durch Fliegen.

Energieumsatz der ruhenden, nüchternen Tiere pro 1 qm Oberfläche und 24 Stunden.

Castor		Cajus	
Sommer Cal	Winter Cal	Sommer Cal	Winter Cal
1425	934	1353	1103

Der eingangs erwähnte Versuch, die besagten Mängel zu beheben, bestand nun darin, daß an einem mir seinerzeit von der Badischen Anilin- und Sodafabrik gütigst gestifteten *Elster*schen Atemmesser, dessen Abbildung in dem diesseits modifizierten Zustande eingefügt ist (Abb. 1 und 2), die folgenden Anordnungen getroffen wurden:

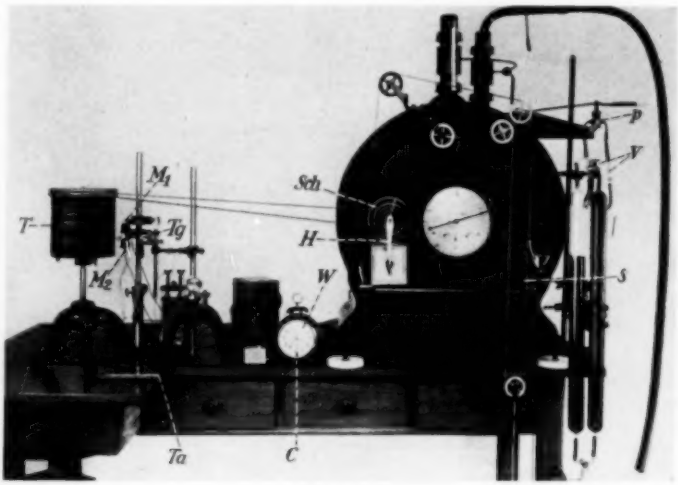


Abb. 1.

1. *Anbringung eines U-förmigen Endstücks mit Umschalthahn h an dem Probenahmerohr P*, wodurch die jeweilige Anbringung von zwei Gassammelröhren folgen kann, deren untere Tubulaturen durch ein entsprechend geformtes Rohrstück mit dem Auslaufschlauch *S* verbunden werden. Diese Anordnung ermöglicht eine momentane gegenseitige Umschaltung der einen (gasgefüllten) Sammelröhre auf die andere (zur Gassammlung vorbereitete), eine bequeme fortgesetzte Auswechslung der gasgefüllten Sammelröhren und damit einen während stundenlanger Versuche ununterbrochenen Betrieb.

2. *Koppelung der Gasprobenahme mit einer Registriervorrichtung, welche die während der Gassammlung geatmeten Luftmengen graphisch vorzeichnet.* In der vorliegenden Ausführungsform geschieht dies durch Verbindung der zur Betätigung des Schnurlaufs für den Auslauf der Gassammelröhren dienenden Stufenscheibe (*Sch*) mit einer passend eingerichteten Registriertrommel (*T*) mittels eines zweiten Schnurlaufs, wodurch eine rotierende Bewegung dieser Trommel im Tempo des Atemmessers bewirkt wird. An der Schreibfläche der berußten Trommel

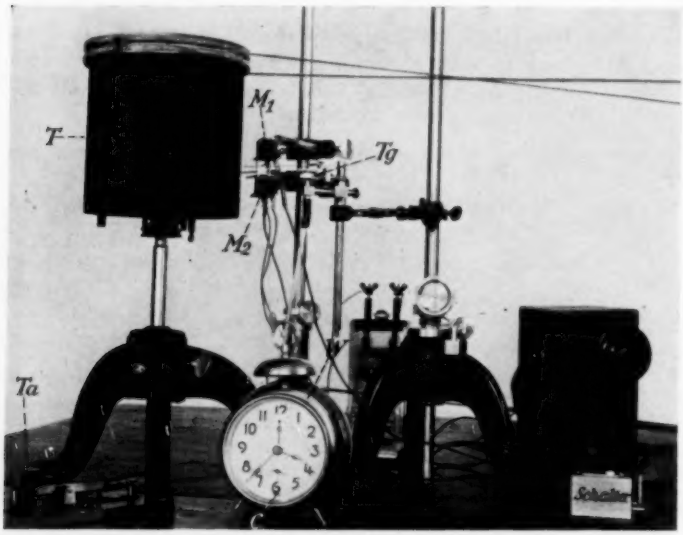


Abb. 2.

ist ein Markiermagnet (M_1) angelegt, der jede Minute eine Marke auf der von seiner Schreibspitze gezogenen Grundlinie einträgt. Der Abstand dieser Marken ist proportional den Umdrehungen des Atemmessers, d. h. den hindurchgeatmeten Luftmengen. Sein „Streckenwert" läßt sich für jede der in Betracht kommenden Übersetzungen ausreichen, d. h. durch Division der in der Versuchszeit abgelaufenen Millimeter in das während der gleichen Zeit durch die Gasuhr gegangenen Luftvolumen ermitteln. So gelingt es leicht, das während eines Versuchs geatmete Luftvolumen getreu und übersichtlich zu registrieren, insbesondere auch einen zuverlässigen Überblick über die Atemgröße der einzelnen Zeitabschnitte (Minuten) des Versuchs ohne viel mühsames Protokollieren zu erlangen. Die registrierten Rohvolumina werden natürlich in üblicher Weise auf v_0 reduziert.

Ergänzt wird dieses „*Atemplethysmogramm*" durch ein gleichzeitig und parallel hierzu aufgenommenes *Pneumogramm*, das durch einen kleinen, empfindlichen Tonographen (*Tg*), der durch eine Rohrleitung mit der Luftzuführung oder dem Gasraum des Atemmessers kommuniziert, verzeichnet wird.

Zur Vervollständigung dieser „Protokollführung" dient schließlich eventuell ein weiterer Reizmarkierer (M_2), der, durch einen Morsetaster (*Ta*) oder dgl. betätigt, besondere Anmerkungen, so z. B. über die etwa während des Versuchs auftretenden Störungsmomente im Verhalten des Versuchsobjekts nach Art und Dauer einfach und übersichtlich anzubringen erlaubt. Da der Versuchsansteller durch die Entbehrlichkeit einer ständigen Beobachtung und Ablesung des Atemmessers wie auch der zeitraubenden handschriftlichen Protokollführung seine Aufmerksamkeit dem Verhalten des Versuchsobjekts ungeteilt widmen kann, wird so eine bisher kaum mögliche Exaktheit der Protokollführung, die für die Auswertung der einzelnen Versuche ja höchst wichtig ist, erreichbar.

Eine Probeschrift dieses Registrierverfahrens ist in Abb. 3 und 4 wiedergegeben.

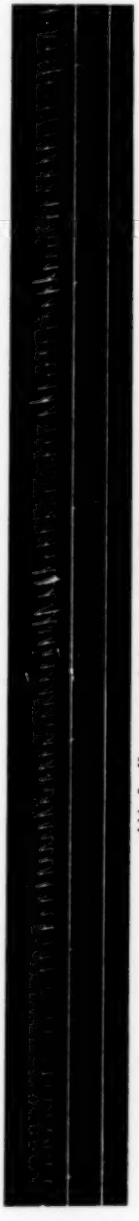


Abb. 3. Kurvenausschnitt von einem Ruheversuch (Mensch).
5 Versuchsminuten. Die Atemgrößen sind (1 mm = 0,145 Liter): 5,94, 5,38, 6,09, 5,84, 5,80; die zugehörigen Frequenzen: 15, 16, 19, 18, 18.

Abb. 4. Kurvenausschnitt aus einem Versuch mit Armarbeit.
3 Versuchsminuten: in der zweiten Minute werden 5 kg gehoben. Die Atemgrößen sind (1 mm = 0,145 Liter): 6,18, 9,02, 6,80; die zugehörigen Frequenzen: 17, 20, 19.

in ihr bedeutet *Pl* das „Atemplethysmogramm", *Pn* das zugehörige Pneumogramm und *St* die „Störungslinie", auf welcher die aufgetretenen Unruhezeiten im Verhalten des Versuchsobjekts nach Zahl und Dauer vermerkt sind.

3. *Die Ausmerzung von Störungen aus einem in Gang befindlichen Versuch* ist bei der vorliegenden Anordnung dadurch zu erzielen, daß durch einen Griff an dem Hebel *H* eine momentane gleichzeitige Ausschaltung der Luftprobenahme und der beschriebenen *Pl*- und *Pn*-Registrierungen erfolgen und unterhalten werden kann, sobald und solange das Verhalten des Versuchsobjekts oder ein sonstiger Umstand dies erfordert. Nach dem Aufhören des „Störungsmoments" führt die erneute Einschaltung der Probenahme und Registrierung in das Zahnradgetriebe des Atemmessers zur Fortsetzung des Versuchs. So gelingt es, einen, unter Umständen zwar aus einzelnen Fraktionen zusammengesetzten, aber dabei durchaus den beabsichtigten Versuchsbedingungen genügenden Versuch zu erhalten, z. B. einen wirklichen Ruheversuch, einen reinen Kauversuch usw. Wenn man in der Feststellung der hierbei geatmeten Luftmengen ganz sicher gehen will, so kann dies natürlich durch jeweilige Protokollierung des Gasuhrstandes bei Aus- und Einrückung des Getriebes geschehen, doch ist diese Vorsicht bei einem prompten Spiel der Vorrichtung entbehrlich.

Die beschriebene Anordnung ist im Jahre 1919 (damals noch ohne Kenntnis des registrierenden Respirationsapparats von *A. Krogh*) entstanden und seitdem verschiedentlich mit gutem Erfolg angewandt worden. Sie läßt sich natürlich technisch in mancher Hinsicht vervollkommnen; im Prinzip scheint sie mir jedenfalls wohl geeignet, dem eingangs erwähnten Zwecke zu dienen.

Zur Kenntnis des Sparteins.

Von

R. Wolffenstein und **J. Reitmann.**

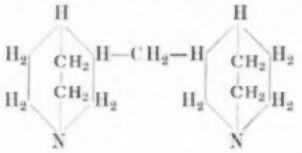
(Aus dem Org. Laboratorium der Technischen Hochschule Charlottenburg.)

Mit einem pharmakologischen Beitrag von *Hans Rosenberg*-Berlin.

(Eingegangen am 9. Mai 1927.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Konstitution des Lupinenalkaloids Spartein ist in ihren Einzelheiten noch nicht geklärt; im allgemeinen neigt man zur Annahme einer Formel, wie sie von *Moureu* und *Valeur*[1]) auf Grund ihrer Erfahrungen beim *Hofmann*schen Abbau des Alkaloids angenommen wird:



Das wesentliche Kennzeichen dieser Formel ist die vollkommene Gleichheit und die symmetrische Lagerung der beiden Stickstoffringe im Molekül.

Bei der Prüfung des Sättigungsverhaltens des Sparteins gegenüber Säuren in Gegenwart von Phenolphthalein als Indikator zeigt es sich aber, daß das Spartein schon durch *ein* Säureäquivalent abgesättigt wird, während Spartein in Gegenwart von Methylorange oder Lackmus als Indikator als zweisäurige Base erscheint.

0,4400 g Sparteinsulfat ergaben 0,2447 g $BaSO_4$.

$C_{15}H_{26}N_2 . H_2SO_4 . 5\,H_2O$. Ber.: 23,2% H_2SO_4.
Gef.: 23,3% H_2SO_4.

0,5200 g Sparteinsulfat erforderten zur Neutralisation gegen Phenolphthalein 12,3 ccm n/10 Kalilauge, entsprechend 0,0603 g Schwefelsäure = 11,6% Schwefelsäure. Das ist also die Hälfte der obigen gravimetrisch gefundenen 23,2% H_2SO_4.

[1]) C. r. **154**, 161.

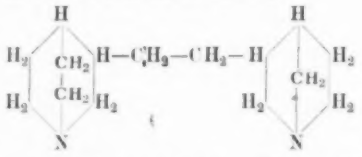
Spartein wird also schon mit einem halben Molekül Schwefelsäure gegen Phenolphthalein neutralisiert.

Dieser einfache Versuch zeigt daher klar, daß die beiden stickstoffhaltigen Ringe des Sparteins nicht gleich sein können, vielmehr beim Spartein ähnliche Basizitätsverhältnisse vorzuliegen scheinen, wie sie z. B. im Chinin, im Nikotin bekannt sind, die ebenfalls zwei ungleichartige Ringsysteme im Molekül besitzen und sich dementsprechend bei der Neutralisation durch Säuren gleich dem Spartein verhalten.

Hiernach scheint es, daß die von *Moureu* und *Valeur* oben angegebene Formel die tatsächlichen Verhältnisse nicht richtig wertet.

Zur Sicherstellung unserer obigen Versuchsergebnisse wurde noch eine Base herangezogen, die unzweifelhaft zwei gleiche Ringsysteme im symmetrisch gebauten Molekül besitzt, das γ, γ-Dipiperidyl. Dieses erwies sich auch, wie erwartet, bei der Sättigung mit Säuren in Gegenwart von Phenolphthalein als zweisäurige Base.

Unsere Versuche lassen also das Spartein als unsymmetrisch gebaute Base erkennen; ein weiterer genauerer Einblick in die Konstitution des Moleküls wird direkt aber dadurch nicht gewährt. Indes könnte man in Betracht ziehen, dem Spartein die folgende Formel zuzuschreiben, die sich durch einfache Verschiebung einer CH_2-Gruppe aus der *Moureu-Valeur*schen Formel ableitet.



Diese neue Formel trägt auch in weiterer Hinsicht Rechnung gegenüber verschiedenen anderen Reaktionen des Sparteins, für die bisher eine gute Erklärung nicht vorlag. So läßt sich mit der vorliegenden Formel die Pyrrolreaktion gut vereinigen, die das Spartein beim Erhitzen mit Zinkstaub gibt[1]) und auch die Beobachtung von *Germain*[2]), wonach sich aus dem Spartein durch oxydative Behandlung Bernsteinsäure bildet.

Um auf Grund dieser neu vorgeschlagenen Sparteinformel einen weiteren Einblick in die Konstitution des Sparteins zu erhalten, wurde der oxydative Abbau des Sparteins nach einer neuen Richtung versucht. Gewöhnlich erhält man durch Einwirkung von Oxydationsmitteln aus dem Spartein schwer faßbare Verbindungen. Es gelang uns aber, durch Natriumhypobromit eine glatte Eliminierung von zwei Wasserstoffatomen aus dem Sparteinmolekül zu erzielen und zu einer Ver-

[1]) *R. Wackernagel* und *R. Wolffenstein*, B. **37**, 3238.
[2]) Gazz. chim. ital. **42**, I, 447.

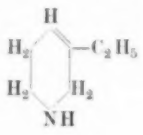
bindung $C_{15}H_{24}N_2$ zu gelangen, die *Dehydrospartein* genannt sein soll. Durch diesen oxydativen Eingriff wird das Spartein stark verändert. Schon äußerlich unterscheidet sich das Dehydrospartein von dem Spartein dadurch, daß es im Gegensatz zu dem flüssigen Spartein von gut kristallinischer Beschaffenheit ist.

Auch im chemischen Verhalten zeigt das Dehydrospartein sich vom Spartein durchaus verschieden. Es weist im Gegensatz zum Spartein eine Doppelbindung auf, die sich durch Entfärbung von Kaliumpermanganat in saurer Lösung nachweisen läßt gegenüber dem dabei beständigen Spartein.

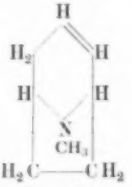
Die Doppelbindung im Dehydrospartein ist sehr fest und schwer aufzuheben. Salzsäure und selbst Bromwasserstoffsäure in Eisessiglösung erzwingt auch im geschlossenen Rohre bei 100° keine Anlagerung, obwohl diese Methode selbst bei dem so schwer angreifbaren Tropidin ohne weiteres zum Ziele führt.

Aber bei der Hydrierung gelang die Aufhebung der Doppelbindung. Doch nur die katalytische Hydrierung führte glatt zum Ziele, denn weder durch Zink und Salzsäure, noch durch Zinn und Salzsäure ließ sich eine Reduktion bewirken.

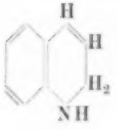
Diese schwierige Reduktionsfähigkeit, wie überhaupt die Passivität der Verbindung bei den Versuchen zur Aufhebung der Doppelbindung dürfte zur Erkennung der Lage im Ringsystem von Bedeutung sein. Betrachtet man nämlich ähnliche ringförmige ungesättigte Basen, deren doppelte Bindung eine analoge Resistenz zeigt, so erweist sich die Doppelbindung dabei stets in gleicher Entfernung vom Stickstoffatom, nämlich in der Δ^3-Stellung wie im:



Δ^3-Tetrahydro-β-äthylpyridin

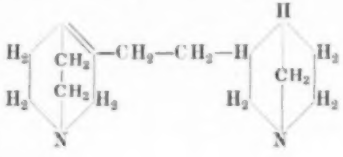


Tropidin



Δ^3-Dihydrochinolin[1])

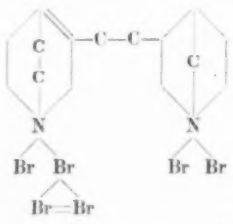
Demgemäß erklärt sich die Stellung der doppelten Bindung im Dehydrospartein am ungezwungensten folgendermaßen:



[1]) *C. Räth*, B. **57**, 552.

Diese Dehydrosparteinformel, die den Eintritt der Doppelbindung an zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen vorsieht, steht im guten Einklang mit den polarimetrischen Eigenschaften des Alkaloids, seiner ungewöhnlich starken Rechtsdrehung, auf welche Verhältnisse noch näher eingegangen wird.

Einer besonderen Erwähnung bedarf die Bromeinwirkung auf Dehydrospartein. Hierbei entsteht in ätherischer Lösung ein Perbromid. Diese schön gelb gefärbte Verbindung von der Zusammensetzung $C_{15}H_{24}N_2 . 6\,Br$ enthält die Bromatome perbromidisch an die Stickstoffatome gebunden. Es liegt hier also eine besondere Anhäufung der Bromatome vor, die sich nur dadurch erklären läßt, daß das Brom als dreiwertig vorhanden anzunehmen ist. Eine derartige Bindung ist bisher wohl noch nicht beobachtet worden; bekannt sind lediglich einige Perjodide mit dreiwertigem Jod. Für dieses Perbromid des Dehydrosparteins dürfte folgende Formel einen passenden Ausdruck geben:



Das Dehydrospartein besitzt die Formel $C_{15}H_{24}N_2$. Eine gleich zusammengesetzte Base ist aus dem Spartein durch Oxydation mit Chromsäure schon von *Willstätter* und *Marx*[1]) erhalten worden. Von dieser Base, dem Spartyrin, ist aber unser Dehydrospartein in allen seinen Eigenschaften charakteristisch verschieden, vor allem durch den hohen polarimetrischen Wert $[\alpha]_D^{18} - 258^0$ gegenüber dem des Spartyrins, $[\alpha]_D^{18,5} - 25{,}96^0$ in alkoholischer Lösung. Weiterhin unterscheidet sich das Dehydrospartein vom Spartyrin durch seinen 20° höher liegenden Schmelzpunkt.

Der auffallende Unterschied des Drehungsvermögens des Dehydrosparteins gegenüber dem Spartein muß wohl in einer tiefgreifenden Veränderung der Bindungsverhältnisse an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen des Sparteins begründet sein, so daß man annehmen darf, daß sich die doppelte Bindung im Dehydrospartein gerade zwischen denjenigen Kohlenstoffatomen befindet, die im Spartein die Drehung nach rechts bewirken.

[1]) B. **38**, 1772.

In der Literatur ist außer dem Spartyrin noch eine Verbindung derselben Zusammensetzung und mit derselben Bezeichnung vorhanden [*Ahrens*[1])]. Wir konnten aber einwandsfrei nachweisen, daß das *Ahrens*sche Dehydrospartein tatsächlich nur Spartein ist, wie auch schon *Willstätter* Zweifel an seiner Existenz äußerte. Die experimentellen Belege darüber finden sich weiter unten angegeben.

So erscheint unser Dehydrospartein in seiner Abgrenzung zum Spartein und Spartyrin klargestellt.

Wir gaben oben auch schon an, daß sich das Dehydrospartein katalytisch reduzieren läßt. Hierbei entsteht nun eine Base von der Zusammensetzung des Sparteins, aber Spartein selber wird dabei nicht zurückgebildet, sondern es bildet sich ein neues gesättigtes, dem Spartein isomeres Alkaloid, das wir *Pseudospartein* nennen.

Das Pseudospartein $C_{15}H_{26}N_2$ stellt eine flüssige, farblose Base vor von dem eigentümlich spermaartigen Geruch des Sparteins. Aber es unterscheidet sich von dem Spartein durch seinen etwas höheren Siedepunkt, seine größere Viskosität und in seinem optischen Drehungsvermögen, das $[\alpha]_D^{18} - 49{,}8^0$ ist, also etwa 30^0 höher als das des Sparteins. Auch die Löslichkeitsverhältnisse seiner Salze sind von denen des Sparteins verschieden.

Das Drehungsvermögen des Pseudosparteins schließt auch eine Identität mit dem Isospartein $C_{15}H_{26}N_2$ von *Moureu* und *Valeur* aus, das zu $[\alpha]_D^{18} - 25{,}01^0$ angegeben ist. Über das Isospartein finden sich sonst keine charakteristischen Angaben in der Literatur, die wir zu einem Vergleich mit unserem Pseudospartein heranziehen können. Ob die Beziehungen des Sparteins zum Pseudospartein auf Stereoisomerie beruhen, oder ob, durch leicht verschiebbare Atomgruppen bedingt, Umlagerungen im Molekül zu der Bildung dieser verschiedenen Verbindungen Veranlassung geben, kann noch nicht entschieden werden.

Experimenteller Teil.

Darstellung von Dehydrospartein.

18,2 g kristallisierten Sparteinsulfats werden in etwa 20 ccm Wasser gelöst. In diese Lösung läßt man langsam aus einer Bürette eine alkalische Bromlösung zutropfen, die man sich durch Auflösen von 27,2 g Br (4 Mol) in 277 ccm 3,7% NaOH (6 Mol) bereitet hat. Es entsteht eine gelbe Emulsion, die aber bei lebhaftem Schütteln verschwindet. Da bei der Reaktion Bromwasserstoffsäure entsteht und in saurer Lösung sich harzige Sparteinperbromide bilden, muß man, um diesen unwillkommenen Reaktionsverlauf zu vermeiden, jedesmal nach dem Zutropfen von etwa 25 ccm Bromlauge 10 ccm Natronlauge (etwa normal) zu der Reaktionsflüssigkeit geben. Die Entfärbung geht dann wieder schnell vor sich.

[1]) B. **26**, 3035.

Um das Oxydationsprodukt aus der Reaktionsflüssigkeit zu isolieren, wird diese mit Lauge stark alkalisch gemacht und ausgeäthert. Nach dem Abdampfen des Äthers hinterbleiben 9 g eines rötlichen Öles. Dieses wird dann mit etwa 20 ccm lauwarmen Alkohols in Lösung gebracht und sich selbst überlassen. Nach kurzer Zeit beginnt das Dehydrospartein, sich aus der dunkelroten Lösung in großen farblosen Kristalldrüsen abzuscheiden. Es wird abgesaugt und mit eiskaltem Alkohol nachgewaschen. Das Präparat ist schneeweiß und analysenrein.

Ausbeute 4,2 g.

Analyse. 0,1493 g Substanz: 0,4218 g CO_2, 0,1393 g H_2O.

$C_{15}H_{24}N_2$. Ber.: 77,1% C 10,4% H.
Gef.: 77,5% C 10,4% H.

N-Bestimmung. 0,1600 g Substanz: 16,5 ccm N_2 bei 761 mm und 20°.

$C_{15}H_{24}N_2$. Ber.: 12,0% N.
Gef : 12,0% N.

Die kryoskopische Molekulargewichtsbestimmung nach *Beckmann* ergab bei Anwendung von 0,6514 g Substanz in 14,65 g Eisessig die Depression $\Delta = 0{,}74°$.

$C_{15}H_{24}N_2$. Ber.: Molekulargewicht = 232.
Gef.: „ = 239.

Es ist unlöslich in Wasser und Alkohol, löslich in den meisten anderen Solvenzien, besonders in Chloroform.

Das Chlorhydrat der Base erhält man durch Einleiten von trockenem Salzsäuregas in die absolut ätherische Lösung derselben als flockigen weißen Niederschlag von äußerst hygroskopischer Beschaffenheit.

N-Bestimmung. 0,1635 g Substanz: 12,8 ccm N_2 bei 759 mm und 22°.

$C_{15}H_{24}N_2 \cdot 2\,HCl$. Ber.: 9,18% N.
Gef.: 9,08% N.

Cl-Bestimmung 0,1557 g Substanz erforderten, nach *Volhard* titriert, 11,0 ccm n/10 $AgNO_3$, entsprechend 0,0385 g Cl.

$C_{15}H_{24}N_2 \cdot 2\,HCl$. Ber.: 23,7% Cl.
Gef.: 24,7% Cl.

Dehydrospartein ist als ungesättigte Verbindung nicht mehr so stark alkalisch wie Spartein und wird deshalb, zum Unterschied von Spartein, schon durch Soda aus seinen Salzen ausgefällt.

Das Perbromid entsteht in sehr einfacher und glatter Reaktion, wenn man die absolute ätherische Lösung von Dehydrospartein so lange mit absoluter ätherischer Bromlösung versetzt, bis die Färbung des Broms bestehen bleibt. Der grobkörnige Niederschlag wird abgesaugt und im Exsikkator getrocknet. Es stellt ein schönes kanariengelbes Pulver dar.

N-Bestimmung. 0,1624 g Substanz: 4,9 ccm N_2 bei 759,5 mm und 19°.

$C_{15}H_{24}N_2Br_6$. Ber.: 3,9% N.
Gef.: 3,5% N.

Gesamtbrombestimmung nach *Carius*: 0,1651 g Substanz gaben 0,2342 g AgBr.

Gef.: 60,4% Br.

Auf die beiden Stickstoffatome berechnet, sind das 6,0 Atome Brom.

Die Bestimmung des perbromidischen Broms wurde zunächst durch Titration mittels Jodkali und Natriumthiosulfat versucht. Das Resultat war aber unbefriedigend (5,4 Atome Br pro Molekül), da das Perbromid im Wasser zersetzt wird und teilweise Bromwasserstoffsäure bildet. Wir führten daher durch Reduktion mit schwefliger Säure das Brom des Perbromids über in Bromwasserstoffsäure und titrierten dasselbe nach *Volhard*: 0,2032 g Dehydrosparteinperbromid wurden in wenigen Kubikzentimetern Wassers aufgeschlämmt, einige Minuten schweflige Säure eingeleitet, bis alles gelöst war, und dann der Überschuß an schwefliger Säure abgedampft. Bei der Titration dieser Lösung wurden verbraucht 15,0 ccm n/10 $AgNO_3$, entsprechend 0,1200 g Br.

Gef.: 59,1% Br,

das sind auf 1 Mol $C_{15}H_{24}N_2$ 5,9 Atome Br.

Das Perbromid ist unlöslich in fast allen organischen Solvenzien.

Pseudospartein.

Die Hydrierung von Spartein muß bei vollkommenem Luftabschluß durchgeführt werden, um die Bildung von Farbstoffen zu vermeiden, die den Kontakt vergiften.

Es wurden in einem Versuch 0,9831 g Dehydrospartein in 15 ccm Eisessig bei Gegenwart von 0,66 g Platinmohr[1]) der Hydrierung unterworfen. Bei 22° und 755 mm betrug die H_2-Aufnahme 93,5 ccm H, das ist die theoretisch erforderliche Menge H, berechnet für 2 Atome H pro Mol Dehydrospartein. Abb. 1 zeigt den zeitlichen Verlauf der H_2-Aufnahme in Kubikzentimetern.

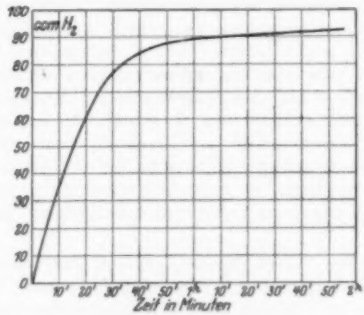


Abb. 1.

Zur Isolierung des hydrierten Alkaloids wurde die mit Lauge im Überschuß versetzte Lösung ausgeäthert und der Äther scharf abdestilliert. Es hinterbleibt 1 g eines farblosen Öles, das Pseudospartein.

Analyse. 0,1260 g Substanz: 0,3562 g CO_2, 0,1247 g H.

$C_{15}H_{26}N_2$.	Ber.:	76,9% C	11,1% H.
	Gef.:	77,1% C	11,0% H.

[1]) Dargestellt nach *Loew*, B. **23**, 289; *Willstätter*, B. **45**, 1472.

Sein Siedepunkt, nach *Siwoloboff*[1]) im Kapillarrohr bestimmt, beträgt 325°.

Das Ergebnis der polarimetrischen Untersuchungen der in Frage kommenden Verbindungen zeigt die nachfolgende Tabelle.

	g/100 ccm	Rohrlänge dcm	α	$[\alpha]_D^{18}$
Spartein in Chloroformlösung . .	8,037	0,992	— 1,1°	— 13,8°
Dehydrospartein in Chloroformlös.	7,655	0,333	— 6,5	— 255,0
Pseudospartein in Chloroformlös.	8,435	0,333	— 1,4	— 49,8
Spartyrin in Alkohol	27,74	—	—	— 25,96*)
Isospartein	—	—	—	— 25,01†)

*) Nach *Willstätter*. — †) Nach *Moureu* und *Valeur*.

Um die Angabe von *Ahrens*, wonach aus Spartein und Chlorkalk ein Dehydrospartein von der Formel $C_{15}H_{24}N_2$ entstehen solle, nachzuprüfen, wurden 1,1 g Spartein mit 100 ccm einer frisch bereiteten Chlorkalklösung versetzt und häufig geschüttelt. Nach dem Stehen über Nacht wurde ausgeäthert: farbloses Öl, Kp. 314°[2]).

Das Pikrat schmilzt bei 201° unkorr. Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{18}$ — 13,6° (8,302 g in 100 ccm Chloroform). Ein kristallisiertes Chlorhydrat wurde nicht erhalten.

Die Daten stimmen also vollkommen mit denen des Sparteins überein.

Die vorliegenden neuen Sparteinderivate, das *Dehydrospartein* und das *Pseudospartein*, wurden von Herrn Dr. *Hans Rosenberg* im Physiologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin einer orientierenden pharmakologischen Prüfung unterzogen.

Bekanntlich hat das Spartein neben seiner Wirkung auf das Herz einen lähmenden Einfluß auf das Nervensystem, der sich am ganzen Tier durch mehr oder minder weitgehende Herabsetzung der aktiven Beweglichkeit und der Reflexerregbarkeit sowie durch eine zunehmende Atemlähmung äußert[3]). Diese giftigen Eigenschaften verbieten, wie *Bohnenkamp* und *Hildebrandt*[4]) erwähnen, die volle Ausnutzung der durch das Spartein hervorgerufenen Verlangsamung der Reizüberleitung am Herzen[5]) beim Menschen.

Es schien daher von Wichtigkeit, die neuen Derivate in dieser Hinsicht mit dem Spartein zu vergleichen. Aus diesem Grunde wurde darauf verzichtet, die toxischen und letalen Dosen im allgemeinen zu bestimmen, und lediglich der Effekt gleicher Dosen auf Herztätigkeit, Atmung und Reflexerregbarkeit ausgewertet. Die Beobachtungen wurden an nicht narkotisierten

[1]) *Siwoloboff*, B. **19**, 795.

[2]) *Siwoloboff*, B. **19**, 795.

[3]) Vgl. die zusammenfassende Darstellung von *W. E. Dixon* in Heffters Handb. d. exper. Pharm. **2**, 2. Hälfte, 724, 1924.

[4]) *H. Bohnenkamp* und *F. Hildebrandt*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **102**, 244, 1924.

[5]) *F. Hildebrandt*, ebendaselbst **101**, 136, 1924.

Fröschen (teils Temporarien, teils Eskulenten) vorgenommen, deren Herz in situ freigelegt war. Die Substanzen wurden in 1% wässeriger Lösung unter die Haut des Oberschenkels gespritzt; am häufigsten wurden Mengen von etwa 0,2 mg pro Gramm, d. h. 0,2 g pro Kilogramm gegeben.

Es zeigte sich nun, daß *Dehydrospartein* in diesen toxischen Dosen die Herzfrequenz eher weniger verlangsamte als das Ausgangsprodukt, während die Atmung durch das Derivat merklich früher gehemmt wurde als durch Spartein. Zuweilen war die Zahl der Atemzüge bei der gleichen Dosis durch Dehydrospartein schon sehr vermindert, wenn das Spartein erst eine gewisse Unregelmäßigkeit oder geringe Verlangsamung der Atemfrequenz herbeigeführt hatte. Auch die Reflexe scheint das Derivat früher zum Erlöschen zu bringen. Soweit die einfache Betrachtung ein Urteil gestattet, bestand in der Herzwirkung als solcher kein Unterschied zwischen beiden Körpern: auf der Höhe der Wirkung wird die Diastole erheblich verlängert, die Füllung des Herzens vermehrt, die Ausgiebigkeit der Systole vermindert. Auffallend ist die in zwei Absätzen erfolgende Füllung des diastolisch erschlafften Herzens und die baldige Dunkelfärbung des Herzblutes.

Es sei bei dieser Gelegenheit betont, daß, wie schon *Dixon* ausführte, die Herzwirkungen der Digitalisstoffe und des Sparteins grundlegend voneinander differieren. Übrigens konnte die bekannte Tatsache bestätigt werden, daß Atropin die Herabsetzung der Herzfrequenz durch Spartein nicht hindert, was schon aus dem Umstande folgt, daß Spartein selbst den Herzvagus lähmt.

Auch das *Pseudospartein* besitzt alle erwähnten Eigenschaften des Sparteins, ist aber ebenfalls etwas giftiger als das Ausgangsmaterial insofern, als Atmung und Reflexe etwas rascher gelähmt werden.

Die in den geprüften Derivaten gegebenen chemischen Abänderungen haben also nicht zu einer Verminderung der toxischen Nebenwirkungen des Sparteinmoleküls geführt. Da im Tierversuch schon Dosen, welche die Schlagfolge des Herzens nur wenig verlangsamen, die Atemtätigkeit und Reflexerregbarkeit nachweisbar schädigen können, bleibt die Auffindung von Derivaten, deren Nebenwirkungen wesentlich abgeschwächt sind, eine notwendige Voraussetzung für eine erfolgreiche Sparteinanwendung beim Menschen.

Perspiratio insensibilis: Ihr Wesen und ihre Ursachen.

Von

Francis G. Benedict und **Cornelia Golay Benedict.**

(Aus dem Nutrition Laboratory des Carnegie Institution of Washington, Boston, Massachusetts.)

(Eingegangen am 20. April 1927.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Seit *Sanctorius* (1614) haben verschiedene Forscher zahlreiche Versuche ausgeführt, um die qualitativen und besonders die quantitativen Beziehungen zwischen den Ursachen der Perspiratio insensibilis festzustellen. Es war schon lange bekannt, daß ein dauernder, regelmäßiger, unsichtbarer Verlust an Körpergewicht auftritt; und als man später das Wesen der Atmungsprozesse besser erkannte, war es klar, daß dieser unsichtbare Verlust dem Gleichgewicht zwischen Einnahme von Sauerstoff und Wasserdampf aus der eingeatmeten Luft und der Ausgabe von Kohlendioxyd und Wasserdampf durch Lungen und Haut zuzuschreiben ist. Die quantitativen Gesichtspunkte dieses Verlustes sind keineswegs klar. Man hat zahlreiche Methoden für das Studium der Perspiratio insensibilis angewendet. *Sanctorius*[1]) wog den ganzen Körper und bestimmte den gesamten unsichtbaren Verlust, und zahlreiche Beobachter haben seitdem immer wieder dieses Verfahren aufgenommen. Die Genauigkeit solcher Wägungen erreichte ihren Höhepunkt in der außerordentlich genialen Stoffwechselwage von *Lombard*[2]), welche aber leider nur für wenige Beobachtungen angewendet wurde. Spätere exakte Wägungen wurden sichergestellt durch die Einrichtung im „Nutrition Laboratory" und in der Klinik von Dr. *E. P. Joslin* am „New England Deaconess Hospital" mit

[1]) *Sanctorius*, Medicina Statica, übersetzt von *John Quincy*, 2. Aufl. London 1720.

[2]) *Lombard*, Journ. Amer. Med. Assoc. **47**, 1790, 1906.

zwei Sauterwagen; eine Reihe von Untersuchungen wurden mit dieser Ausrüstung an Gesunden, Diabetikern und Schilddrüsenkranken ausgeführt. Sie ergaben, daß die gesamte „Perspiratio insensibilis" eng verbunden ist mit dem gleichzeitig gemessenen Stoffwechsel[1]). Im Anschluß an diese Feststellungen wurden im „Nutrition Laboratory" quantitative Versuche angestellt, welche Messungen des Gesamtverlustes und des Verlustes durch Haut und Lungen allein in sich schlossen mit besonderer Berücksichtigung der Beziehungen zwischen dem Gewicht des durch die Lungen abgegebenen Wasserdampfes und Kohlendioxyds und dem Gewicht des verbrauchten Sauerstoffs.

Daten bezüglich der Faktoren der Perspiratio insensibilis stehen in enger Beziehung zu allen über den Gasaustausch in Atmungskammern festgelegten Zahlen, in denen der ganze Verlust, sowohl durch Lunge als durch Haut gemessen wurde. Es ist klar, daß die Schwierigkeit, eine möglichst genaue Wage zu erhalten, zusammen mit der lange herrschenden Vorstellung, daß die „Perspiratio insensibilis" zum großen Teil aus Wasser aus der Haut bestehe, viele Forscher dazu führte, das Problem des Wasserverlustes entweder an der gesamten Haut oder an verschiedenen ihrer Teile zu studieren, jedoch mit unzureichender Beachtung des Verlustes von seiten der Lungen allein. Bevor wir die Protokolle der quantitativen Analysen aus dem „Nutrition Laboratory" aufzeichnen, sei deshalb eine allgemeine geschichtliche Übersicht der Untersuchungen über die „Perspiratio insensibilis" gegeben.

Frühere Messungen der „Perspiratio insensibilis".

Die Literatur über die Methode der Körperwägung auf einer Wage wurde kürzlich von *Benedict* und *Root*[1]) vollständig zusammengestellt. Es ist einleuchtend, daß solche Wägungen nur die gesamte „Perspiratio insensibilis" ergeben und keine Trennung des Lungenverlustes von dem Hautverlust erlauben. Man wandte andere Methoden an, um den nicht wahrnehmbaren Verlust zu erforschen. So benutzte man verschiedene Arten von Atmungskammern, in denen der ganze Körper eingeschlossen und die Kohlendioxydproduktion und die Abgabe von Wasserdampf gemessen wurde, gelegentlich mit gleichzeitiger Messung des Sauerstoffverbrauchs. Unter diesen Gesichtspunkten liefern alle neueren Atmungsexperimente brauchbare Daten, aber häufig geben die Protokolle keine Auskunft in bezug auf den Wasserdampf, oder die Zeitangaben sind derart, daß die Berechnung der „Perspiratio insensibilis" unmöglich ist. Eine andere Methode umfaßte die Messung des Wasserverlustes durch die Haut (d. h. nicht inbegriffen den Verlust durch die Lungen oder den Verlust durch Gesicht und Stirn), wobei der Körper in einen undurchlässigen Sack oder eine Atemkammer eingeschlossen wurde, während der Kopf außerhalb blieb. Wieder andere Methoden bestanden darin, daß ein Arm oder Bein

[1]) *Benedict* und *Root*, Arch. intern. Med. **38**, 1, 1926.

in einer besonders gestalteten Kammer eingeschlossen oder ein kleiner Teil der Haut mit einem Kasten oder einem passenden Deckel bedeckt und der Wasserdampf aus diesem Teile des Körpers bestimmt wurde. Es ist einleuchtend, daß die beiden zuletzt erwähnten Methoden nur den Wasserverlust behandeln. Schließlich gibt es noch die Methode, den Verlust durch die Lunge allein zu messen, und zwar mittels eines Atmungsapparats mit Mund- und Nasenstück oder Maske, oder mittels einer kleinen Kammer für den Kopf oder eines Helmes, in dem der Kopf Platz findet. Auf diese Art wurden der durch die Lungen abgegebene Wasserdampf und das Kohlendioxyd bestimmt. Gelegentlich machte man dabei Messungen des aufgenommenen Sauerstoffs.

Kammermethode zur Messung der gesamten „Perspiratio insensibilis".

Die Erfindung der großen Atemkammer von *Pettenkofer* und *Voit*[1]) ermöglichte sowohl die Bestimmung der gesamten Wasserabgabe als auch der Kohlensäureproduktion. *Lewin*[2]) wandte die *Pettenkofer-Voit*-Kammer in München an und später konstruierte *Rubner* in Berlin ein Modell, mit welchem zahlreiche Untersuchungen von ihm[3]) und seinen Mitarbeitern *Wolpert*[4]), *von Lewaschew*[5]), *Laschtschenko*[6]), *Schattenfroh*[7]) und *Peters*[8]) ausgeführt wurden. Diese Forscher bestimmten nicht nur die ganze Wasserabgabe, sondern führten auch Berechnungen zur Verteilung des Wasserverlustes zwischen Lungen und Haut ein. Kleinere Formen der *Pettenkofer*-Kammer für Kinder wandten später *Rubner* und *Heubner*[9]), *Niemann*[10]), *Bahrdt*, *Birk*, *Edelstein* und *Hellesen*[11]) an. Mit dem *Pashutin*-Kalorimeter in St. Petersburg machten *Sadovyen*[12]), *Likhatscheff*[13]) und *Likhatscheff* und *Aurorow*[14]) Bestimmungen der gesamten Wasserabgabe. Andere Formen der Atemkammern, welche die Messung des Wasserdampfes gestatten,

---

[1]) *Pettenkofer* und *Voit*, Zeitschr. f. Biol. **2**, 459, 1866.

[2]) *Lewin*, Zeitschr. f. Biol. **17**, 71, 1881.

[3]) *Rubner*, Arch. f. Hygiene **38**, 120 und 148, 1900; Beiträge zur Ernährung im Knabenalter. Berlin 1902.

[4]) *Wolpert*, Arch. f. Hygiene **26**, 32 und 68, 1896; **33**, 206, 1898; **36**, 203, 1899; *Broden* und *Wolpert*, l. c. **39**, 298, 1901.

[5]) *Rubner* und *v. Lewaschew*, Arch. f. Hygiene **29**, 1, 1897.

[6]) *Laschtschenko*, ebendaselbst **33**, 144, 1898.

[7]) *Schattenfroh*, ebendaselbst **38**, 93, 1900.

[8]) *Wolpert* und *Peters*, ebendaselbst **55**, 299 und 309, 1906.

[9]) *Rubner* und *Heubner*, Zeitschr. f. Biol. **36**, 1, 1898; **38**, 315, 1899.

[10]) *Niemann*, Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **11**, 63, 1913.

[11]) *Birk* und *Edelstein*, Monatsschr. f. Kinderheilk. **9**, 505, 1910; *Bahrdt* und *Edelstein*, Festschr. Dr. *O. L. Heubner*. Berlin 1913; *Dieselben*, Jahrb. f. Kinderheilk., Ergänzungsb. **72**, 43, 1910; *Hellesen*, Nord. Med. Arkiv **48**, 1915, Nr. 14 und 18.

[12]) *Sadovyen*, Metabolism in fasting, Publ. Russian Soc. General Hygiene St. Petersburg **12**, 1887 bis 1888.

[13]) *Likhatscheff*, Production of heat of healthy man in the condition of comparative rest. Diss. St. Petersburg 1893.

[14]) *Likhatscheff* und *Aurorow*, Investigation of gas and heat exchange in fevers. Reports Imperial Military Medical Academy St. Petersburg **5**, 1902.

wurden von *Sondèn* und *Tigerstedt*[1]), *Atwater* und seinen Mitarbeitern[2]) an der Wesleyan Universität, Middletown, Connecticut, am Nutrition Laboratorium[3]) in Boston, Massachusetts, von *Lusk* und *Du Bois* und ihren Mitarbeitern am Russell Sage Institut für Pathologie in New York City[4]) und von *Staehelin*[5]) in Basel angewandt. Eine Betrachtung des gesamten Wasserverlustes durch den Körper, wobei besonderer Wert auf Versuche mit Atmungskammern gelegt wird, findet man in der Zusammenfassung von *Barbour*[6]) und *Rowntree*[7]).

Kammermethode zur Messung des Wasserverlustes durch die Haut allein.

Schon 1790 gingen *Lavoisier* und *Seguin*[8]) an das Problem der Messung des unmerklichen (insensiblen) Verlustes durch die Haut allein, indem sie ihre Versuchsperson in eine undurchlässige Hülle steckten, wobei der Kopf außen blieb und sie den vom Körper abgegebenen Wasserdampf maßen. Aber erst ein Jahrhundert später wurden weitere Versuche über diese besondere Seite des Problems angestellt, als nämlich im Jahre 1893 eine eigene Atemkammer in *Rubners* Laboratorium geschaffen wurde, die von *Schierbeck*[9]) beschrieben und angewendet wurde. Der ganze Körper der Versuchsperson, ausgenommen der Kopf, konnte in diese Kammer eingeschlossen werden; der durch die Haut an den Ventilationsstrom abgegebene Wasserdampf wurde mittels eines Haarhygrometers gemessen. Denselben Apparat benutzten in der Folgezeit *Nuttall*[10]) und *Wolpert*[11]). 1902 konstruierte *von Willebrand*[12]) eine besondere Kammer,

---

[1]) *Sondèn* und *Tigerstedt*, Skand. Arch. f. Physiol. **6**, 97, 1895.

[2]) *Atwater*, *Woods* und *Benedict*, U. S. Dept. Agric., Office Expt. Sta., Bull. **44**, 29, 1897; *Atwater* und *Rosa*, Physical Review **9**, 129, 1899; *Atwater* und *Benedict*, U. S. Dept. Agric., Office Expt. Sta., Bull. **109**, 1902; *Dieselben*, ebendaselbst **136**, 1903; *Dieselben*, Carnegie Inst. Wash. Pub., Nr. 42, 1905; *Benedict*, ebendaselbst, Nr. 77, 1907; *Benedict* und *Milner*, U. S. Dept. Agric., Office Expt. Sta., Bull. **175**, 1907; *Benedict* und *Carpenter*, ebendaselbst **208**, 1909; *Carpenter* und *Benedict*, Amer. Journ. Physiol. **24**, 203, 1909; *Dieselben*, Journ. Biol. Chem. **6**, 271, 1909; *Benedict* und *Carpenter*, Carnegie Inst. Wash. Pub., Nr. 126, 1910.

[3]) *Benedict*, Amer. Journ. Physiol. **26**, 15, 1910; *Benedict* und *Carpenter* Carnegie Inst. Wash. Pub., Nr. 123, 1910; *Benedict* und *Joslin*, ebendaselbst, Nr. 136, 1910; *Carpenter*, Journ. Biol. Chem. **9**, 231, 1911; *Benedict*, Carnegie Inst. Wash. Pub., Nr. 203, 1915.

[4]) *Lusk* und *Du Bois*, zahlreiche Referate im Arch. Intern. Med. u. Cornell Univ., Med. Bull. Siehe besonders *Soderstrom* und *Du Bois*, Arch. intern. Med. **19**, 931, 1917.

[5]) *Staehelin*, Zeitschr. f. klin. Med. **66**, 201 und 241, 1906; Verhandl. d. Naturforsch. Ges. Basel **1**, 100, 1908.

[6]) *Barbour*, Physiol. Reviews **1**, 295, 1921.

[7]) *Rowntree*, ebendaselbst **2**, 116, 1922.

[8]) *Seguin* und *Lavoisier*, Mémoires de l'Académie des Sciences, S. 608, Paris 1790; Oeuvres de Lavoisier **2**, 704. Paris 1862.

[9]) *Schierbeck*, Arch. f. Hygiene **16**, 203, 1893; Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1893, S. 116.

[10]) *Nuttall*, Arch. f. Hygiene **23**, 184, 1895.

[11]) *Wolpert*, ebendaselbst **41**, 301 und 306, 1902.

[12]) *v. Willebrand*, Skand. Arch. f. Physiol. **13**, 337, 1902.

in welcher sowohl die Kohlendioxyderzeugung als der durch den Körper mit Ausnahme des Kopfes abgegebene Wasserdampf gemessen werden konnten. Die ausgedehntesten Versuche jedoch über den Wasserverlust durch die Haut allein wurden in Tübingen von *Schwenkenbecher* und seinen Mitarbeitern[1]) ausgeführt. Die *Schwenkenbecher*sche Kammer wurde nach dem Muster des früheren *Rubner*schen Apparats konstruiert, und zwar derart, daß die Versuchsperson bequem daliegen konnte, mit dem Kopfe außerhalb der Kammer, und daß die Feuchtigkeit in der strömenden Luft mittels Haarhygrometer ermittelt wurde. In jüngster Zeit wurde sie von *Schlüter*[2]) 1925 angewandt. Im Jahre 1913 kehrte *Osborne*[3]) zu *Lavoisiers* Methode zurück, indem er einen undurchlässigen Sack benutzte, und berichtete über einige bei diesem Vorgehen in Australien gemachte Erfahrungen. Nach einer langen Reihe von Versuchen über den „insensiblen" Verlust durch Bein oder Arm allein wandte *Loewy* 1914[4]) eine Kammer an, in der die Versuchsperson völlig eingeschlossen sitzen kann und in Röhren hineinatmet, welche die ausgeatmete Luft nach außen leiten, so daß die Luft in der Kammer nicht durch die Atmungsprodukte verunreinigt wird. Abgesehen von den Versuchen von *Loewy* war jedoch bei dieser Methode zur Messung des „unsichtbaren" Verlustes durch die Haut allein der Verlust durch Gesicht und Kopf nicht inbegriffen. Angesichts der hohen Temperatur des Kopfes entstand durch die Vernachlässigung der Messung des Verlustes durch diesen Teil des Körpers eine beträchtliche Fehlerquelle.

Messung des Wasserdampfverlustes durch ein Glied oder durch einen kleinen Hautbezirk.

Um den von einem Arm oder Bein oder einem kleinen Teile des Körpers abgegebenen Wasserdampf zu messen, ist es notwendig, das Glied in eine luftdichte Kammer einzuschließen. Über diese Methode berichtet zuerst *Abernethy*[5]) 1793, obwohl bereits in einer Veröffentlichung von *Cruikshank*[6]) angegeben ist, daß dieser schon 1795 Zahlen über den Wasserdampfverlust durch den Arm publiziert hat. Nach Versuchen von *Abernethy* und *Cruiks-*

[1]) *Schwenkenbecher*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **79**, 29, 1903; *Lang*, ebendaselbst **79**, 343, 1904; *Schwenkenbecher* und *Inagaki*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **53**, 365, 1905; *Schwenkenbecher* und *Spitta*, ebendaselbst **56**, 284, 1907; *Schwenkenbecher* und *Tuteur*, ebendaselbst **57**, 285, 1907; *Schwenkenbecher*, Verhandl. d. XXV. Kongresses f. inn. Med., Wien 1908, S. 559; *Schwenkenbecher*, *Krehl* und *Marchands* Handb. d. allgem. Pathol. **2**, 2. Teil, 418, 1913; *Moog* und *Nauck*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **25**, 385, 1921; *Moog*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **138**, 181, 1922; *Derselbe*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **31**, 316, 1923; *Derselbe*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **98**, 75, 1923; *Schwenkenbecher*, Verhandl. d. 38. Kongresses d. deutsch. Ges. f. inn. Med. 1926, S. 302.

[2]) *Schlüter*, Arch. f. d. ges. Physiol. **210**, 432, 1925.

[3]) *Osborne*, Journ. Physiol. **47**, 12, 1913.

[4]) *Loewy*, diese Zeitschr. **67**, 243, 1914.

[5]) *Abernethy*, Surgical and physiological essays. London 1793.

[6]) *Cruikshank*, Experiments on the insensible perspiration of the human body, shewing its affinity to respiration. Published originally in 1779. Republished with additions and corrections in 1795, London.

hank verging nahezu ein Jahrhundert, ehe diese Methode wieder aufgenommen wurde. Jedoch wandte 1869 *Reinhard*[1]) eine Kammer an, um den Wasserverlust durch ein Körperglied zu messen, und seinen Untersuchungen folgten Arbeiten mit einer ähnlichen Methode von *Erismann*[2]), *Rochrig*[3]), *Jannsen*[4]), *Peiper*[5]), *Cramer*[6]), *Barratt*[7]), *Kalmann*[8]), *Loewy* und *Wechselmann*[9]), *Loewy*[10]), und *Alchieri*[11]). Um das von besonderen Teilen der Haut verdampfte Wasser zu messen, faßte *Gerlach*[12]) 1851 zuerst den Gedanken, die Haut mit einem Stückchen getrockneter Blase zu bedecken. Aber erst beim Erscheinen der hervorragenden Monographie von *Weyrich*[13]) 1862 wurde diese Forschungsmethode wissenschaftlich ausgewertet. *Weyrichs* Monographie behandelt die Literatur in höchst gründlicher Weise und sollte mehr geschätzt werden. Sein Apparat, dem leider die Ventilation fehlt, bedeckte einen kleinen Teil der Haut und war an den Gebrauch eines *Daniell*-Hygrometers gebunden. 20 Jahre später wurde er von *Arnheim*[14]) angewendet, der 1882 und 1888 zwei Berichte veröffentlichte, und erst 1907 wird eine Modifikation dieses Apparats von *Sagalov*[15]) beschrieben. Im Laboratorium von *Peiper* wurde ein Apparat konstruiert, der zuerst 1886 von *Weber*[16]) in einer Dissertation und schließlich 1889 in einer großen Monographie von *Peiper*[17]) beschrieben wurde. Der *Peiper*-Apparat wurde auch von *Sauer*[18]) angewendet. *Waller*[19]) verwandte 1894 ein Glasgefäß, das Calciumchlorid zur Absorption des Wasserdampfes enthielt, und wog den Wasserverlust seitens verschiedener Teile der Haut. Später modifizierten *Mc Clure* und *Sauer*[20]), *Galeotti* und *seine* Mitarbeiter,

---

[1]) *Reinhard*, Zeitschr. f. Biol. **5**, 28, 1869.

[2]) *Erismann*, ebendaselbst **11**, 1, 1875.

[3]) *Rochrig*, Die Physiologie der Haut. Berlin 1876.

[4]) *Jannsen*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **33**, 334, 1883.

[5]) *Peiper*, Untersuchungen über die Perspiratio insensibilis unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Wiesbaden 1889.

[6]) *Cramer*, Arch. f. Hygiene **10**, 231, 1890.

[7]) *Barratt*, Journ. Physiol. **21**, 192, 1897; **22**, 206, 1897; **24**, 11, 1899.

[8]) *Kalmann*, Arch. f. d. ges. Physiol. **112**, 561, 1906.

[9]) *Loewy* und *Wechselmann*, Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **206**, 79, 1911.

[10]) *Loewy*, diese Zeitschr. **67**, 243, 1914.

[11]) *Alchieri*, Arch. d. Fisiol. **21**, 181, 1923.

[12]) *Gerlach*, Arch. f. Anat., Physiol. u. wissensch. Med. 1851, S. 431.

[13]) *Weyrich*, Die unmerkliche Wasserverdunstung der menschlichen Haut. Leipzig 1862.

[14]) *Arnheim*, Zeitschr. f. klin. Med. **5**, 363, 1882; **15**, 378, 1888.

[15]) *Sagalov*, Skin perspiration of children. St. Petersburg 1907.

[16]) *Weber*, Ein Beitrag zur Lehre von der Perspiratio insensibilis, Dissertation Greifswald 1886.

[17]) *Peiper*, Untersuchungen über die Perspiratio insensibilis unter normalen und pathologischen Verhältnisse. Wiesbaden 1889.

[18]) *Sauer*, Ein Beitrag zur Lehre von der Perspiratio insensibilis, Dissertation Greifswald 1887.

[19]) *Waller*, Journ. Physiol. **15**, 25, 1894.

[20]) *Mc Clure* und *Sauer*, Arch. intern. Med. **21**, 428, 1918.

Viale[1]), *Galeotti* und *Macri*[2]), *Musumeci* und *Di Macco*[3]), *Borrino*[4]) und *Muggia*[5]) diesen Apparat. Besondere Aufmerksamkeit ist der Anwendung der Galeotti-Methode durch *Flarer*[6]) zu schenken und ebenso seiner sinnreichen Verwertung der hygroskopischen Natur eines vorher getrockneten Froschmagens zur Bestimmung des durch die Haut abgegebenen Wassers, eine Methode, welche er *Reiss*[7]) zuschreibt.

Respirationsapparat und Kopfkammer zur Messung des Wasserverlustes durch die Lunge.

Die Messung des von den Lungen allein in der ausgeatmeten Luft abgegebenen Wasserdampfes fand, obwohl sie zuerst 1859 von *Edward Smith*[8]) unternommen wurde, keine weitere Beachtung, bis 1898 *Rubner*[9]) unter Anwendung einer Kopfkammer Zahlen für den Wasserverlust durch die Lunge allein angab. 1912 berichtet *Galeotti*[10]) über Versuche an einer kleinen, mit Mundstück und Klappen versehenen Metallbüchse, mittels der er das Volumen der ausgeatmeten Luft maß. Den aus den Lungen kommenden Wasserdampf absorbierte er durch Calciumchlorid. Dieser Apparat wurde auch von *Azzi*[11]) angewendet. *Siebeck* und *Borkowski*[12]) benutzten den Universalrespirationsapparat des „Nutrition Laboratory", um den von den Lungen abgegebenen Wasserdampf zu wiegen, und in Verbindung mit einer Arbeit über die Temperatur der ausgeatmeten Luft verwendeten *Liljestrand* und *Sahlstedt*[13]) ein besonderes Mund- und Nasenstück und sammelten den Wasserdampf in Schwefelsäurebehältern.

Schlußfolgerungen aus der Literatur über die „Perspiratio insensibilis".

Aus der Literatur über die Messungen der Perspiratio insensibilis durch Wägungen des Körpers kann man, besonders wenn sie genau ausgeführt wurden, schließen, daß der „unmerkliche Verlust" zwischen 15 und 50 bis 60 g pro Stunde beträgt und im allgemeinen der Größe des Individuums und dem Grade der Muskeltätigkeit oder Ruhe proportional ist. Je größer die Muskelarbeit, desto größer der Verlust. Ferner kann man den Schluß ziehen, daß ein enger Zusammenhang zwischen dem unsichtbaren Verlust und dem Gasstoffwechsel obwaltet.

---

[1]) *Viale*, Arch. ital. de Biol. **60**, 408, 1913.
[2]) *Galeotti* und *Macri*, diese Zeitschr. **67**, 472, 1914.
[3]) *Musumeci* und *Di Macco*, Lo Sperimentale **74**, 252, 1920.
[4]) *Borrino*, Riv. di clin. pediatr. **21**, 151, 1923.
[5]) *Muggia*, Archivio per le Scienze Mediche **46**, 376, 1923.
[6]) *Flarer*, Bull. d. soc. med. chir. Pavia, **1**, 25, 1926 (zitiert in Berichte u. d. ges. Physiol. **36**, 119, 1926).
[7]) *Reiss* (Originalangaben sind nicht erhältlich).
[8]) *Smith*, Philos. Trans. **149**, 698, 1859.
[9]) *Rubner*, Arch. f. Hygiene **33**, 151, 1898.
[10]) *Galeotti*, diese Zeitschr. **46**, 173, 1912.
[11]) *Azzi*, Arch. ital. de Biol. **61**, 203, 1914; Lo Sperimentale **67**, 811 837 und 845, 1914; **68**, 321, 1915.
[12]) *Siebeck* und *Borkowski*, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **131**, 55, 1919.
[13]) *Liljestrand* und *Sahlstedt*, Skand. Arch. f. Physiol. **46**, 94, 1924.

Dies wurde sowohl durch Versuche an Gesunden, als auch an einer Reihe von Diabetikern und Schilddrüsenkranken[1]) schlagend bewiesen. Diese Beziehung wird am besten durch eine Kurve (Abb. 1) gezeigt, auf der die Wärmeproduktion innerhalb 24 Stunden zu dem „unsichtbaren Verlust" pro Stunde in Beziehung gesetzt ist.

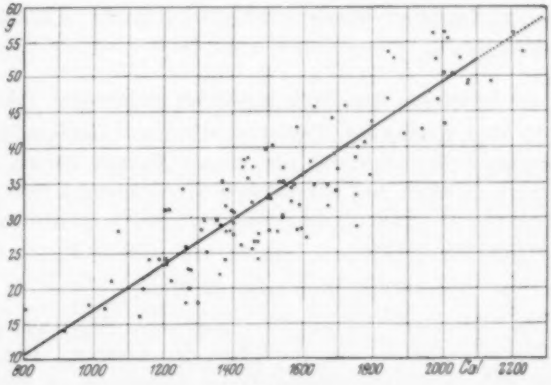


Abb. 1.
Beziehung zwischen der gesamten stündlichen Perspiratio insensibilis und der 24 Stunden-Wärmeproduktion. (*Root*).
Die Kreuze bezeichnen Ergebnisse bei Diabetikern, die Punkte bei Schilddrüsenkranken. Die Wärmeproduktion wurde kurz vor oder unmittelbar nach der Bestimmung der Perspiratio insensibilis festgestellt. Die Messungen wurden gewöhnlich unter den üblichen Bedingungen ausgeführt, nur in wenigen Fällen nach der Nahrungsaufnahme.

Der Einfluß äußerer Faktoren, wie Kleidung, Windströmung und Temperatur der Umgebung, auf die gesamte Perspiratio insensibilis ist klein. Nur wenn die Temperatur der Umgebung 26° C oder darüber beträgt, wächst der Verlust, dies ist gewöhnlich mit Schweißausbruch verbunden. Andererseits verringert sich der Verlust, wenn der Körper friert und besonders, wenn die Extremitäten sehr kalt sind.

Versuchsplan.

Diese Resultate, die zum größten Teil auf eigenen Experimenten des Nutrition Laboratory beruhten (und häufig von früheren Arbeiten abweichen), führten naturgemäß zu einer weiteren Untersuchung der Sachlage[2]). Man versuchte daher den Verlust auf Lunge und Haut zu verteilen und besonders die Beziehungen zwischen der ausgeatmeten Kohlensäure, dem absorbierten Sauerstoff, dem durch die Lungen und

[1]) *Benedict* und *Root*, Arch. intern. Med. **38**, 24, 1926.
[2]) *Benedict* und *Benedict*, Skand. Arch. f. Physiol. **49**, 89, 1926.

dem durch die Haut verdampften Wasser zu studieren. Ergänzende Problemstellungen umfaßten Messungen der Lüftung der Lungen und der Temperatur der ausgeatmeten Luft. Von diesen Studien wollen wir hier die Verteilung des Verlustes zwischen Lungen und Haut erörtern und die Beziehungen zwischen dem durch die Lungen ausgeatmeten Kohlendioxyd, dem absorbierten Sauerstoff, dem durch die Lungen verdampften Wasser und dem gesamten „unmerklichen Verlust" darlegen.

Die an der Perspiratio insensibilis beteiligten gasförmigen Faktoren.

Es gibt drei gasförmige Faktoren, die eine wichtige Rolle bei dem unsichtbaren Verlust durch den ganzen Körper spielen, nämlich das verdampfte Wasser, das ausgeatmete Kohlendioxyd und der verbrauchte Sauerstoff. Diese drei Faktoren sollen unabhängig voneinander betrachtet werden.

Wasserverlust durch die Haut.

Der vom lebenden Organismus abgegebene Wasserdampf kann zwei Quellen entstammen, der Haut und den Lungen. Der aus der Haut kommende wird auf zweierlei Weise abgegeben; in erster Linie durch die fortwährende langsame Ausdunstungsabsonderung durch Schweißdrüsen und Poren. Diese Ausdunstung ist nicht groß genug, um sichtbar zu sein; man kann nur den sichtbaren Schweißtropfen bemerken, wenn eine gewisse sekretorische Aktivität erreicht ist. Zu diesem Wasserverlust durch die Schweißdrüsenausführungsgänge tritt unzweifelhaft noch ein Verlust an Wasserdampf durch die Haut selbst. So kommt es, daß beim Tode eines Tieres oder Menschen zwar die Atmung stillsteht, die sekretorische Tätigkeit aufhört, der Körper sich schließlich bis zur Zimmertemperatur abkühlt und kein weiterer Durchtritt von Luft in Nase und Mund, noch Schweißabsonderung besteht, und daß dennoch der Körper beständig an Gewicht abnimmt und austrocknet. Man hat gewisse Versuche an Menschen gemacht, die ohne Schweißdrüsen geboren wurden. *Loewy*[1]) hat eine in dieser Richtung sehr wichtige Untersuchung veröffentlicht, wobei er zeigte, daß ein ansehnlicher Betrag von Wasserdampf selbst ohne die Tätigkeit der Schweißdrüsen abgegeben wird. Neuerdings wurde diese Beobachtung *Loewys* von *Richardson*[2]) in der Klinik von *Du Bois* am Russell Sage Institute of Pathology in New York durchaus bestätigt. Jedoch beschäftigt uns der Mechanismus des Wasserverlustes durch die Haut in dieser besonderen Studie nicht.

[1]) *Loewy* und *Wechselmann*, Arch. f. path. Anat. u. Physiol. **206**, 79, 1911.

[2]) *Richardson*, Journ. Biol. Chem. **67**, 397, 1926.

Wasserverlust durch die Lungen.

Aus der früheren Literatur ist ersichtlich, daß alle Forschungen über die Perspiratio insensibilis sich praktisch auf den Wasserverlust durch die Haut beschränkten, aber dem Verlust durch die Lungen nur wenig Aufmerksamkeit schenkten. Andererseits wird fortwährend Luft mit einem wechselnden Wassergehalt in die Lungen eingeführt, schätzungsweise auf annähernd 30 oder 35° C gewärmt und daher aus den Lungen mit bedeutend mehr Wasserdampf gesättigt ausgestoßen.

Kohlendioxyd.

Auch das vom Körper ausgeatmete Kohlendioxyd stammt aus zwei Quellen, den Lungen und der Haut, aber wie schon früher *Fubini* und *Ronchi*[1]) und später *v. Willebrand*[2]) u. a. zeigten, wird nur ein kleiner Teil (kaum 1 %) durch die Haut abgegeben. Ein ausführlicher Vergleich der Methoden zur Bestimmung des respiratorischen Austausches, den unser Kollege Dr. *T. M. Carpenter*[3]) veröffentlichte, liefert indirekt einen entscheidenden Beweis für diesen Punkt. Beim Vergleich der Methoden mit Respirationskammern, in denen die gesamten Atmungsprodukte ermittelt werden, und mit denen, in welchen nur der Gasaustausch in den Lungen gemessen wird, berichtet *Carpenter* von einer Kohlendioxydproduktion von 190 ccm pro Minute als Durchschnittswert von allen Versuchen mit dem Ruhebettkalorimeter und von 185 ccm als Durchschnittswert von allen Versuchen mit Atmungsapparaten mit Mundstückatmung. Ein Anstieg der Kohlendioxydproduktion von 3 % ist deshalb möglich, wenn die Atmungskammer angewendet wird. Wer mit experimenteller Technik vertraut ist, wird erkennen, daß dies beinahe innerhalb der Grenzen eines Messungsfehlers liegt, und ein klarer Beweis dafür ist, daß kein schätzbarer Betrag von Kohlendioxyd durch die Haut abgegeben wird, wenigstens in der Ruhe, wenn auch die Lage gänzlich verändert sein kann, wenn Muskeltätigkeit mit intensiver Hautzirkulation zusammentrifft. Der größte Teil des Kohlendioxyds ist das Ergebnis von Oxydationsprozessen im Stoffwechsel. Ein kleiner Betrag entsteht als Spaltprodukt der Kohlehydrate bei der Bildung von Fett, obgleich dieses Quantum bei Masttieren groß sein kann. Bei den Wiederkäuern rührt ein nicht unbeträchtlicher Betrag von bakteriellen Gärungen her. Hinsichtlich des Gewichtsverlustes des Körpers ist die genaue Herkunft des Kohlendioxyds unwesentlich. Nur zum Zwecke der Diskussion ist zu beachten,

---

[1]) *Fubini* und *Ronchi*, *Moleschotts* Untersuchungen zur Naturlehre 12, 1, 1878.

[2]) *v. Willebrand*, Skand. Arch. f. Physiol. **13**, 337, 1902.

[3]) *Carpenter*, Carnegie Inst. Wash. Publ. Nr. 216, 1915, S. 100.

daß das Kohlendioxyd ausschließlich durch die Lungen abgegeben wird, und der kleine Bruchteil, der durch die Haut exhaliert wird, kann vernachlässigt werden.

Sauerstoff.

Bei den Atmungsprozessen wird fortwährend Sauerstoff eingenommen, gewöhnlich in annähernd demselben Volumen in dem Kohlendioxyd ausgeatmet wird. Da praktisch nichts von diesem Sauerstoff im Körper zurückgehalten oder aufgespeichert wird, wird er fast unmittelbar im Kohlendioxyd oder Wasser ausgeschieden.

Von den drei an der Perspiratio insensibilis beteiligten gasförmigen Faktoren mag daher der Gewichtsverlust durch die Haut als durch Wasser allein bedingt angesehen werden und der gesamte Verlust durch die Lungen zum größten Teil als Resultante aus dem eingenommenen Sauerstoff und der Abgabe von Wasserdampf und Kohlendioxyd durch die Lungen. Auf diese Weise beschränkt sich das Problem der Verteilung des Verlustes zwischen Lungen und Haut von selbst zum großen Teil auf die Messung dieser drei gasförmigen Faktoren.

Technik.

Die Messung des ausgeatmeten Kohlendioxyds und des verbrauchten Sauerstoffs ist praktisch jedem Stoffwechselkliniker vertraut und bietet keine besonderen Schwierigkeiten. Die Messung des vom ganzen Körper verdampften Wassers, einschließlich der Lungen und Haut, ist ebenfalls ohne große technische Schwierigkeiten durchzuführen. Für diese Messungen können Atmungskammern, die gewöhnlich für Gasstoffwechselversuche gebraucht werden, in Anwendung kommen, besonders wenn kein Wasserverschluß benutzt wird, die Bedingungen bezüglich der Feuchtigkeit in der Kammer bekannt sind und die Kondensation des Wassers innerhalb der Kammer vermieden wird. Eine besondere Technik ist jedoch nötig, um das durch die Haut und das durch die Lungen abgegebene Wasser voneinander zu trennen. Wenn die Versuchsperson sich innerhalb einer Atmungskammer befindet und das gesamte, sowohl von Lungen als Haut verdampfte Wasser gemessen wird, so hatte man die zuerst von *Rubner*[1]) eingeführte Methode der Berechnung, um diese zwei Verlustquellen voneinander zu trennen. In dieser Berechnung wird die Feuchtigkeit der eingeatmeten Luft bestimmt, das Gesamtvolumen der durch die Lungen strömenden Luft gemessen oder berechnet, die ausgeatmete Luft als mit Wasserdampf bei Körpertemperatur gesättigt angesehen. Diese Methode, den Wasserverlust seitens der Lungen zu berechnen, ergab

[1]) *Rubner*, Arch. f. Hygiene **33**, 151, 1898.

bei fast allen Forschern verschiedene Werte; denn vor allem war die Temperaturmessung der ausgeatmeten Luft keineswegs einwandfrei und die angenommenen Temperaturen schwankten zwischen 32 und 37° C. — Zweitens ist die Messung des Gesamtvolumens der durch die Lungen strömenden Luft nur dann möglich, wenn Verbindungen mit einem Meßapparat vorhanden sind. Daher ist das Volumen bei Anwendung von Atemkammern unbekannt. Als Ergebnis vieler Experimente von *Zuntz* und seinen Mitarbeitern[1]), bei welchen die Versuchspersonen direkt mit einem Meßapparat verbunden waren, wurde angenommen, daß bei den Stoffwechselprodukten auf ein Volumteil von absorbiertem Sauerstoff 21 Volumteile Luft durch die Lungen hindurchgehen. Aus dieser Überlegung heraus, aus der bekannten Luftfeuchtigkeit in der Kammer, die leicht meßbar ist, und aus der Annahme, daß die ausgeatmete Luft bei einer Temperatur zwischen 34 und 37° C gesättigt ist, wird das durch die Lungen verdampfte Wasser berechnet. Als Ergebnis einer Reihe von Berechnungen, die sich auf Versuche am Hungernden stützen, zeigte sich, daß dieser Wert für die Lungenlüftung pro Liter verbrauchten Sauerstoffs zwischen 22,6 und 34,0 Litern[2]) schwankte. Dies allein lehrt die einer solchen Berechnung anhaftenden Schwierigkeiten, besonders bei pathologischen Fällen.

Unser Verfahren, den Verlust zwischen Lunge und Haut zu verteilen, war anders. Wenn man auf eine große Wage nicht nur die Versuchsperson, sondern auch einen einfachen Atmungsapparat stellt, und auf der Wage den ganzen durch die Lunge ausgeatmeten Wasserdampf und das gesamte Kohlendioxyd wiegt, und einem gleichfalls auf der Wage stehenden Zylinder mit komprimiertem Gas den notwendigen Sauerstoff entnimmt, um die normale Atmung aufrechtzuerhalten, würde jeder Verlust bei diesem aufgehängten System (d. h. einschließlich der Versuchsperson, des Atemapparats und des Sauerstoffzylinders) nur den Verlust durch die Haut darstellen. Dieser kann, wie wir aber gesehen haben, hauptsächlich als aus Wasserdampf bestehend angesehen werden. Unsere ersten Versuchsreihen umfaßten deshalb diese experimentelle Anordnung.

Methode zur Bestimmung des Gesamtverlustes.

Die zur Messung der gesamten Perspiratio insensibilis angewandte Apparatur war eine äußerst empfindliche Wage von *Sauter*[3]), die imstande ist, an jedem Wagebalken mit 100 kg belastet zu werden

[1]) *Zuntz, Loewy, Müller* und *Caspari*, Höhenklima und Bergwanderungen in ihrer Wirkung auf den Menschen, 1. Aufl., Berlin 1906, S. 380.

[2]) *Benedict*, Carnegie Inst. Wash. Publ. Nr. 203, 1915, S. 374.

[3]) *August Sauter*, Ebingen, Württemberg, Präzisionswage Nr. 521.

und (wenigstens bei den zwei Wagen, die im Nutrition Laboratory und im Deaconess Hospital aufgestellt sind) eine Empfindlichkeit von 0,1 g bei voller Belastung hat. Zu diesem Zwecke muß die Wage

Abb. 2.
Wage und aufgehängtes Bett zur Bestimmung der gesamten Perspiratio insensibilis. Ein Schraubengewinde dient zum Aufziehen und Herablassen der Wage. Wenn die Versuchsperson an Gewicht verliert, werden auf dem Gestell über dem Bett Gewichte hinzugefügt.

stark montiert sein, und zwar so, daß das aufgehängte Bett frei schwingen kann (s. Abb. 2).

Wenn schwere Gewichte von annähernd 200 kg auf die Wage gehoben werden müssen, ist die persönliche Handhabung des Hebelwerks für einen weiblichen Assistenten zu schwer, es wurde deshalb

ein einfaches Triebwerk angewendet. Gewöhnlich wird das Bett am rechten Balken und das Gegengewicht, das aus verschiedenen Bleistücken besteht, am anderen Wagebalken aufgehängt. Die endgültige Einstellung erfolgt mittels Bleischrot, indem Versuchsperson und Ausrüstung durch Hinzufügen von Gewichten an einem über dem Bette aufgehängten Gestell ausbalanciert werden. Es ist ein wenig schwer, die Anfangszeit des Versuchs festzusetzen, da die Dauer jeder Ausschwingung der Wage annähernd eine halbe Minute beträgt. Gewöhnlich setzt man dies fest, wenn man gerade den Augenblick, in dem der Zeiger in gleicher Entfernung nach beiden Seiten hin ausschlägt, festhält. Das absolute Gewicht des aufgehängten Systems ist nicht wichtig, da es sich um Unterschiede des Verlustes handelt. Bei dieser Art des Aufhängens werden die Verluste durch die Zunahme der auf dem Gestell über dem Bette angebrachten Gewichte ausgedrückt. Die Versuchsperson liegt gewöhnlich auf einem Bette mit Sprungfedermatraze, ist bekleidet und, wenn nötig, mit einer wollenen Decke leicht zugedeckt. Wenn das Bett gerade nicht aufgehängt ist, kann es auch auf zwei hölzernen Stützen ruhen, und es können so Stoffwechselmessungen mit irgend einem Apparat ausgeführt werden. Durch diese Wage mit Bett wird der stündliche „unsichtbare Verlust" genau gemessen. Die Bestimmungen dieser Gewichtsverluste werden gewöhnlich alle 15 Minuten gemacht. In bezug auf die Zeit bilden die Ergebniszahlen fast ständig eine gerade Kurve, die eine bemerkenswerte Gleichförmigkeit in der Zeiteinheit anzeigt.

Methode zur Bestimmung des Hautverlustes.

Zum besonderen Zwecke der Trennung des Hautverlustes vom Lungenverlust ist die Apparatur folgendermaßen abgeändert worden.

Über dem Bette wird zwischen den Aufhängestützen ein hölzernes Brett von annähernd 102 cm Länge und 25 cm Breite angebracht. Auf diesem Brette steht eine modifizierte einfache Atemapparatur, die wir früher beschrieben haben[1]). Der Behälter für Natronkalk zur Absorption des Kohlendioxyds ist etwas kleiner als beim Originalapparat, aber die Badekappe, die als Expansionsapparat dient, bleibt unverändert. Da die Versuche mindestens 40 Minuten bis 1 Stunde lang durchgeführt werden müssen, und es ratsam ist, die Lungen sogar von dem geringfügigen Arbeitsaufwand zu entlasten, der nötig ist, die Ventile zu öffnen und zu schließen, die ausgeatmete Luft durch Röhren in die Absorptionsgefäße zu treiben und Luft in die Lungen

[1]) *Benedict* und *Benedict*, Skand. Arch. f. Physiol. **44**, 87, 1923; *Dieselben*, Boston Med. and Surg. Journ. **188**, 567, 1923; *Benedict*, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod., Abt. IV, Teil 10, S. 608, 1924.

zurückzuleiten, wird diese ganze Lüftungsbewegung mittels eines kleinen Rotationsventilators[1]) bewerkstelligt. Das eigentliche Heben und Senken der Kappe muß von den Lungen geleistet werden, aber die Druckschwankung bei dieser Bewegung ist nicht mit einem Wassermanometer meßbar. Ein Standardmundstück, verbunden mit einem T-Rohr (innerer Durchmesser 22 mm), wird in den Mund gesteckt

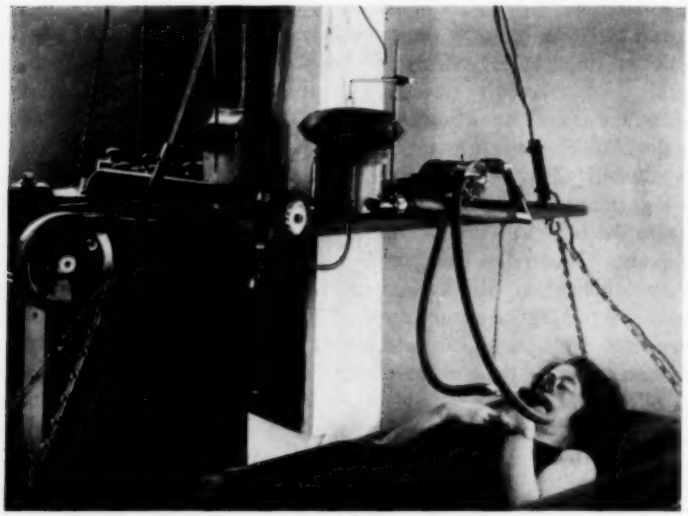


Abb. 3.

Anordnung zur Messung des unsichtbaren Verlustes durch die Haut allein, mit einer über der Versuchsperson schwebend aufgehängten Atemapparatur.

Die Atemapparatur besteht aus einem mit einer Gummibadekappe bedeckten Natronkalkgefäß, aus einem elektrischen Gebläse und einem kleinen Sauerstoffzylinder. Die aufgehängte Apparatur ist mittels einer feinen (hier nicht sichtbaren) Spirale an die elektrische Leitung angeschlossen. Das Gewinde ist auf der linken Seite und die Gegengewichte auf der Schale im Hintergrunde links sichtbar. Der auf der Spitze der Kappe befindliche Knopf mit dem darüber stehenden metallenen Zeiger dient zur Feststellung bestimmter Atemphasen.

und ein Schenkel des T-Rohres mit dem Ventilator verbunden, der die ausgeatmete Luft in den Natronkalkbehälter treibt. Aus diesem geht die kohlendioxydfreie Luft in den anderen Schenkel des T-Rohres und zurück zum Munde, so daß der Kreislauf geschlossen ist. Um nach Bedarf Sauerstoff zu ergänzen, wird ein kleiner Stahlzylinder mit Sauerstoff, wie er allgemein in Krankenhäusern in Gebrauch ist, auf das Bett gestellt und mittels eines Hahnes direkt mit dem ge-

[1]) Angefertigt und ergänzt von *W. E. Collins*, 555 Huntington Avenue, Boston, Mass.

schlossenen System verbunden. Ein Nasenverschluß sichert ausschließliche Mundatmung. Der Nasenverschluß, der von Siebe, Gorman & Company, 187 Westminster Bridge Road, London, hergestellt wird, hat sich für langdauernden Gebrauch als der beste erwiesen.

Unter diesen Bedingungen atmet die Versuchsperson ruhig in die Apparatur hinein. Ventilierung und Luftbewegung werden durch ein Gebläse bewerkstelligt, und die Atmung geht frei und leicht vor sich. Die ausgeatmete Luft mit ihrem Gehalt an Wasserdampf und Kohlendioxyd strömt in Natronkalk[1]), wo Kohlendioxyd absorbiert und Wasserdampf zum großen Teil kondensiert wird. Sauerstoff tritt durch Öffnen der Klappe am Sauerstoffzylinder hinzu, so daß die Kappe zunächst in Mittelstellung erhalten und freies Ein- und Ausatmen möglich wird. Während dieser Vorgänge hebt und senkt sich die Badekappe. Auf diese Weise kann man sehen, daß der Chemismus des gesamten Atmungsprozesses in Gestalt von wägbaren Faktoren auf der Wage verbleibt, da das ganze produzierte Kohlendioxyd sowie der gesamte Wasserdampf aus den Lungen zurückgehalten wird und der Sauerstoff aus dem Zylinder in das geschlossene System übergeht. Unter diesen Bedingungen muß also, wenn das ganze aufgehängte System gewogen wird, der Gewichtsverlust allein durch den Verlust durch die Haut zustande kommen. Dieser Verlust besteht, wie wir gesehen haben, fast ausschließlich aus Wasserdampf mit einem kleinen (für diesen Zweck zu vernachlässigenden) Betrag an Kohlendioxyd.

Um richtige Anfangs- und Endwerte zu erhalten, ist es theoretisch notwendig, daß die Kappe beim Ablesen der Anfangs- und Endgewichte genau gleich eingestellt ist. Da bei der einzigen Lage, bei der man von gleichmäßiger Einstellung der Membran überzeugt sein kann, die Membran so gespannt sein muß, daß der Knopf auf ihrer Spitze mit einem darüber angebrachten Zeiger in Berührung ist, so bedeutet dies theoretisch, daß in dem Augenblick der Gleichgewichtseinstellung auf der Wage die Kappe stets bis zu einem bestimmten Niveau gefüllt sein sollte. Praktisch ist es fast unmöglich, den Knopf mit dem Zeiger in Berührung zu bringen, während die Versuchsperson gewogen wird, weil das Ausschwingen der Wage annähernd eine halbe Minute dauert und die Versuchsperson während dieser Zeit 100 ccm Sauerstoff aus dem geschlossenen System aufnehmen kann. Wir haben es deshalb für einfacher gehalten, das aufgezeichnete Gewicht um diesen Betrag an aufgenommenem Sauerstoff zu korrigieren.

---

[1]) Der Natronkalk ist trocken. Seine Darstellung ist oft beschrieben worden (s. *Benedict*, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod. 1924, Abt. IV, Teil 10, S. 449). Die den Natronkalk verlassende Luft ist trocken und die Ventilation des Systems ist derart, daß sicherlich kein Feuchtigkeitsniederschlag zwischen Mund und Kalkbehälter stattfindet.

Der Sauerstoff wird aus dem Zylinder durch Handkontrolle der Klappe eingeleitet, bis die Kappe leicht überspannt ist, d. h. bis ein leichter Druck entsteht (der 5 mm Wasserdruck nicht übersteigt). Dann wird das Sauerstoffventil dicht geschlossen. Da der Sauerstoff aus dem System aufgebraucht wird und die Membran steigt wie fällt, läßt die Überspannung mehr und mehr nach, bis ein Moment erreicht ist, wo der Knopf auf der Spitze der Kappe gerade nicht mehr den Zeiger berührt. Dieses ganze, für die Apparatur charakteristische Verfahren ist früher beschrieben worden[1]). Mittlerweile wird die Versuchsperson gewogen, was gewöhnlich mehrere Minuten dauert. Die Spanne Zeit zwischen dem Augenblick, da die Kappe den Zeiger gerade nicht mehr berührt, und dem Moment, da das endgültige Gleichgewicht auf der Wage hergestellt wird, bildet die Grundlage für die Berechnung des Sauerstoffbetrages, der aus dem Zylinder in das geschlossene System treten müßte, damit die Kappe den Zeiger gerade in dem Augenblick berührt, wo das Gleichgewicht auf der Wage hergestellt war. Der normale Sauerstoffverbrauch der Versuchsperson, ist vorher ermittelt worden oder wird nachher bestimmt oder kann in den meisten Fällen einfach geschätzt werden. Der Sauerstoffverbrauch für diese Zeitspanne, in Bruchteilen eines Liters ausgedrückt, ergibt, mit 1,43 multipliziert, das Gewicht desjenigen Sauerstoffs, der dem Zylinder hätte entströmen müssen, um die Kappe genau im Moment des Gleichgewichts auf der Wage in die richtige Stellung zu bringen.

Tabelle I.

Gewichtskorrektur durch Wiegen des verbrauchten Sauerstoffs während der Zeit der Einstellung der Wage.

Versuchsperson: Frl. *W.*, 35 Jahre alt, 60 kg, 161 cm. 29. September 1925. Liegend, bekleidet, nüchtern bei 21° C. Durchschnittlicher Sauerstoffverbrauch 180 ccm in der Minute.

a Zeitpunkt der Gewichtsablesung	b Zeit nach dem Berühren des Zeigers durch die Kappe	c Gewicht auf dem Brett über dem Ruhebett g	d Korrektur (0,180 . 1,43 . b) g	e Korrigierte Gewichte (c + d) g	f Hautverlust g
10h08'00"	3'35" = 3,58'	1,0	0,9	1,9	—
10 24 22	6 1 = 6,02	3,5	1,5	5,0	3,1
10 36 38	4 15 = 4,25	7,0	1,1	8,1	3,1
10 59 15	2 33 = 2,55	11,5	0,7	12,2	4,1
11 08 00	0 51 = 0,85	13,2	0,2	13,4	1,2
60					11,5

[1]) *Benedict* und *Benedict*, Skand. Arch. f. Physiol. **44**, 87, 1923; *Dieselben*, Boston Med. and Surg. Journ. **188**, 567, 1923; *Benedict*, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod. 1924, Abt. IV, Teil 10, S. 608.

Dies ist gleichbedeutend mit einer Additionskorrektur, weil der Zylinder sich auf derselben Seite der Wage wie die Versuchsperson befindet, und weil nach dem Entweichen des Sauerstoffs aus dem Zylinder dieser an Gewicht verloren haben würde und zum Ausgleich dieses Gewichtsverlustes ein entsprechendes Gewicht auf dem Brette über der Versuchsperson nötig gewesen wäre, da alle Gewichte auf dieser Seite der Wage aufgestellt sind. Eine derartige Korrektur wird bei sämtlichen Gewichten, die während eines Versuchs an der Wage abgelesen werden, angewendet. In Tabelle I ist ein Beispiel für die Berechnung gegeben.

Methode zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs.

Begreiflicherweise ist bei der vorausgegangenen Korrektur ein exakter Wert für den Sauerstoff wünschenswert, aber durchaus nicht notwendig, da gewöhnlich im Annäherungswert bis zu 10 oder sogar 20% die Resultate nicht ernstlich beeinflußt wurden, besonders wenn eine Reihe aufeinander folgender Wägungen vorgenommen wird. Glücklicherweise kann man mit dieser Apparatur den Sauerstoffverbrauch ohne große Schwierigkeiten messen. Man erhält direkt den Sauerstoffverbrauch, indem man den Sauerstoffzylinder vor und nach dem Versuch auf einer besonderen Wage wiegt. Gewöhnlich werden mit jeder Versuchsperson eine oder zwei solche Messungen gemacht, wobei man mit der Bestimmung des normalen Sauerstoffverbrauchs einen doppelten Zweck verfolgt; erstens kann die oben erörterte Korrektur für die Messung des Hautverlustes angewandt werden, und zweitens kann der gesamte „insensible" Verlust mit dem Stoffwechselumsatz, den man bei der Messung der Perspiratio insensibilis erhält, verglichen werden.

Diskussion.

Vergleich zwischen der gesamten Perspiratio insensibilis und dem Hautverlust.

Mit der oben skizzierten Apparatur wurde die gesamte Perspiratio insensibilis und die Perspiratio insensibilis durch die Haut allein an einer Anzahl Individuen gemessen. Die Zahlen sind in Tabelle II vermerkt. Die ersten sechs Versuchspersonen waren wahrscheinlich gesund, die letzten vier waren zucker- oder schilddrüsenkrank. Der experimentelle Vorgang war gewöhnlich derart, daß die Versuchsperson etwa eine Stunde auf der Wage lag, während der der stündliche Verlust gemessen wurde. Während einer zweiten Zeitspanne, zwischen 40 und 60 Minuten schwankend, fand die Atmung durch das Mundstück statt, so daß der Hautverlust allein gemessen wurde. Die Versuchspersonen trugen beständig ihre normale Kleidung und waren meist

Tabelle II.

Gesamte Perspiratio insensibilis und unsichtbarer Verlust durch die Haut allein. Versuchsperson liegend, bekleidet. (Werte pro Stunden.)

Versuchsperson	Körpergewicht kg	Datum	Gesamtverlust g	Hautverlust g	Hautverlust %
Frl. *W.* . . .	60,0	17. I. 1924	26,2	12,2	47
		28. IX. 1925	21,1	10,4	49
		29. IX. 1925	24,6	11,5	47
		15. I. 1926	23,8	9,6	40
		21. IV. 1926	19,3	10,1	52
Frl.. *G.* . . .	68,1	22. III. 1926	25,9	15,4	59
Frl. *L.* . . .	51,2	17. X. 1925	18,9	9,3	49
Herr *R.* . .	73,3	1. X. 1925	26,1	12,9	49
Herr *B.* . .	78,9	6. X. 1925	34,2	15,4	45
		24. IV. 1926	34,0	17,0	50
Herr *C.* . .	67,2	12. I. 1926	29,4	14,6	50
		14. I. 1926	31,0	12,6	41
		26. I. 1926	35,4	17,3	49
		22. IV. 1926	30,9	13,9	45
Frau *M.* . .	61,4	14. X. 1925	27,3	19,2	70
Frau *R.* . .	72,8	15. X. 1925	60,6	21,4	35
Frl. *C.* . . .	—	16. X. 1925	23,3	12,0	52
Herr *T.* . .	52,3	15. X. 1925	18,2	8,1	45
Durchschnitt:			28,3	13,8	49

mit einer leichten Wolldecke zugedeckt. In einigen Fällen waren sie in nüchternem Zustande, in einigen hatten sie kurz vor der Messung eine leichte Mahlzeit eingenommen. Die Zimmertemperatur betrug bei allen Versuchen ungefähr 20° C, nur bei dem Versuch an Herrn *C.* (am 12. Januar 1926) 15° C.

Obgleich die Beobachtungen schon am 17. Januar 1924 begannen, wurden die meisten Versuche erst im Herbst und Winter 1925/26 gemacht. Der gesamte Stundenverlust schwankte zwischen dem Minimum von 18,2 g bei dem Diabetiker Herrn *T.* bis zu dem Maximum von 60,6 g bei der hyperthyreosen Frau *R.* Die Werte bei den meisten anderen Versuchspersonen liegen zwischen 25 und 35 g, übereinstimmend mit den allgemeinen Befunden bei Gesunden. Der stündliche Verlust durch die Haut zeigt beträchtliche Schwankungen, von 8,1 g Minimum bis zu 21,4 g Maximum (wieder bei demselben Diabetiker

und demselben Falle von Hyperthyreose). Bei den anderen Versuchspersonen beträgt der Hautverlust ungefähr die Hälfte, häufig etwas weniger als die Hälfte des Gesamtverlustes. Der durchschnittliche Hautverlust würde sich, wenn ein allgemeiner Durchschnittswert statthaft ist, auf 13,8 g pro Stunde oder 331 g pro Tag belaufen. Dieser Befund weicht so völlig von den Angaben anderer Laboratorien, wo der Wasserverlust durch die Haut gemessen wurde, ab, daß es schwer hält, die Unterschiede zu erklären. In den meisten Fällen, in denen der Wasserverlust durch die Haut allein bestimmt wurde, ist der Verlust durch den Kopf, besonders durch Gesicht, Wangen und Stirn nicht mit inbegriffen. Es wird jedoch gewöhnlich ein Hautverlust von annähernd 600 g pro Tag angegeben, oder ungefähr doppelt so viel, als der Durchschnitt in unseren Versuchsreihen beträgt. Technisch ist der Gebrauch einer Apparatur mit über der Haut stagnierender Luft anfechtbar, und nach unserer eigenen Erfahrung mit verschiedenen Arten von Haarhygrometern sind wir geneigt, diese Methode abzulehnen, da sie bestimmt zu hohe Werte ergibt.

In den letzten Spalten in Tabelle II ist der Prozentsatz des Hautverlustes zur gesamten Perspiratio insensibilis angegeben. Dieser prozentuale Verlust stellt nicht Wasser aus der Haut im Vergleich zur gesamten unsichtbaren Wasserabgabe dar, sondern nach unseren früheren Darlegungen ist es klar, daß der Verlust durch die Haut meist aus Wasser besteht und der Verlust durch die Lungen aus Wasser plus dem verhältnismäßig kleinen Unterschied zwischen eingeführtem Sauerstoff und ausgeatmetem Kohlendioxyd. Man kann daher im allgemeinen feststellen, daß dieser Prozentsatz durch Wasser dargestellt wird. Bei den in Tabelle II angeführten Versuchspersonen beträgt der prozentuale Verlust durch die Haut gewöhnlich ungefähr die Hälfte des Gesamtverlustes, der Durchschnittswert ist 49 %.

Einfluß von Kleidung und Luftbewegung auf Gesamtverlust und Hautverlust.

Der bekleidete Körper ist normalerweise von einer Schicht warmer, wahrscheinlich etwas feuchter Luft umgeben. Ist er unbekleidet, so könnte man meinen, daß als Folge der Entkleidung eine große Veränderung des unsichtbaren Verlustes, sowohl des gesamten als des Hautverlustes, stattfindet. Es wurde eine Reihe von Versuchen, hauptsächlich an einem Künstlermodell, Frl. *W.*, angestellt, wobei der gesamte unsichtbare und der Hautverlust bestimmt wurden, und zwar am bekleideten Objekt in unbewegter Luft und am unbekleideten entweder in unbewegter oder in mittels eines elektrischen Gebläses bewegter Luft. Die Resultate sind in Tabelle III angegeben. Die Zeiträume betrugen fast stets 40 bis 60 Minuten; die Resultate wurden auf Grund des Stundenverlustes berechnet.

Tabelle III.

Wirkung der Entkleidung und Luftbewegung auf die gesamte Perspiratio insensibilis und den unsichtbaren Verlust durch die Haut allein. Frl. W. (Werte pro Stunde.)

Datum	Bekleidet, ohne Gebläse		Nackt, ohne Gebläse		Nackt, mit Gebläse	
	Gesamtverlust g	Hautverlust g	Gesamtverlust g	Hautverlust g	Gesamtverlust g	Hautverlust g
17. I. 1924	26,2	12,2	—	—	—	—
28. IX. 1925	21,1	10,4	19,3	—	—	—
29. IX.	24,6	11,5	19,5	10,3	—	—
30. IX.	27,3	—	20,7	10,5	—	—
15. I. 1926	23,8	9,6	—	—	—	—
18. I.	—	—	23,6	11,2	—	—
20. I.	—	—	19,9	8,2	—	—
25. I.	—	—	19,7	8,0	—	—
27. I.	—	—	17,2	8,7	—	—
8. II.	29,9	—	—	13,7	—	—
11. II.	—	—	—	11,9	—	10,6
12. II.	—	—	—	11,3	—	10,2
18. II.	—	—	—	14,3	—	10,3
19. II.	21,0	—	—	13,0	—	8,8
20. II.	—	—	—	10,7	—	7,9
25. II.	—	—	—	8,8	—	—
26. II.	—	—	—	—	19,6	8,5
1. III.	—	—	—	—	—	8,6
3. III.	19,3	—	—	15,4	—	12,5
5. III.	20,3	—	—	11,9	—	13,7
10. III.	—	—	20,4	9,0	—	—
24. III.	—	—	20,4	7,6	19,1	—
21. IV.	19,3	10,1	—	—	—	—
27. IV.	12,0	—	—	10,6	27,1	15,1
4. V.	19,6	—	—	13,8	—	10,5
5. V.	—	—	—	—	19,4	7,9
10. V.	—	—	—	—	23,1	8,8
Durchschnitt:	22,0	10,8	20,1	11,0	21,7	10,2

Gesamtverlust in unbewegter Luft.

Der Gesamtverlust des bekleideten Körpers in unbewegter Luft beträgt im Durchschnitt 22,0 g, ein wenig mehr als der des nackten Körpers, d. h. 20,1 g. Wider Erwarten beträgt also der Gesamtverlust des nackten Körpers weniger als der des bekleideten. Es wäre unpraktisch, den Verlust vom Augenblick des Entkleidens an zu messen; denn die exakte Einstellung der Wage hätte einige Minuten erfordert, und somit wäre ein großer Anfangsverlust entstanden, der nicht registriert werden könnte. Wenige Augenblicke nach der Entkleidung der Versuchsperson ist der Gesamtverlust etwas geringer als bei der bekleideten Versuchsperson, bleibt aber lange Zeit konstant, wie Abb. 4 zeigen wird.

Gesamtverlust in bewegter Luft.

In zahlreichen Versuchen wurde der nackte Körper in unbewegter Luft während mehrerer aufeinander folgender Zeitabschnitte von je ungefähr 15 Minuten gewogen, wonach der kräftige Luftstrom eines elektrischen Gebläses über den Körper geleitet wurde. Die Wägungen wurden in Zwischenräumen von 15 Minuten fortgesetzt, wobei der Ventilator sofort abgestellt wurde, um eine Schwankung im Gleichgewicht der Wage zu vermeiden. Gelegentlich stand die Versuchsperson (Frl. *W.*) auf und machte 14 Minuten lang mäßig rasche körperliche Übungen, hauptsächlich Armbewegungen. Typische Experimente dieser Art zeigt Abb. 4, aus welcher zu ersehen ist, daß der Luftstrom

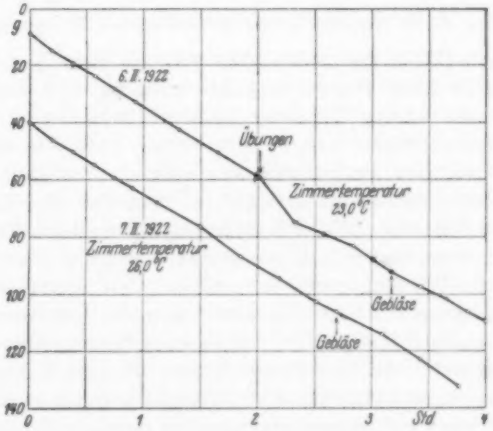


Abb. 4.

Wirkung von Körperübung und Luftbewegung auf die gesamte Perspiratio insensibilis einer unbekleideten Versuchsperson.

Die Kurve vom 6. Februar beginnt anstatt bei Null bei 9 g, die am 7. Februar bei 40 g, da es notwendig war, die Gewichte auf dem Gestell über dem Ruhebett hinzuzufügen, um das Gleichgewicht auf der Wage beim Beginn des Versuches herzustellen. Die Punkte auf der Kurve stellen die Abnahme des Körpergewichts dar, die der Perspiratio insensibilis während der Versuchsdauer zuzuschreiben ist. Die Pfeile zeigen den Moment an, wo körperliche Übungen einsetzten oder der Luftstrom mittels des Gebläses über den Körper zu streichen begann.

über dem Körper ohne Einfluß auf den schrägen Verlauf der Kurven war, die den Gewichtsverlust in Zeitabschnitten anzeigt. Im Gegenteil wirkte sich die körperliche Betätigung durch Bewegen der Arme in einer entschiedenen Richtungsänderung der Kurve aus. Gemäß Tabelle III war der durchschnittliche Gesamtverlust 20,1 g bei neun Versuchen am nackten Objekt und ohne Ventilator. Wenn der Ventilator über dem nackten Körper in Tätigkeit war, und zwar zu einer etwas späteren Jahreszeit, betrug der Gesamtverlust 21,7 g.

Mit anderen Worten: Die Wirkung des Ventilators auf den durchschnittlichen Gesamtverlust dieser Versuchsperson in unbekleidetem Zustande war die, daß er dieselbe Höhe erreichte als in bekleidetem Zustande und in ruhender Luft, also kaum eine beachtenswerte Wirkung, besonders weil Versuche an verschiedenen Tagen und zu verschiedenen Zeiten des Jahres zum Vergleich dienen mußten. Auch an mehreren anderen bekleideten Versuchspersonen wurden Versuche zum Studium der Gebläsewirkung ausgeführt. In einigen Fällen stieg die Perspiratio insensibilis leicht an und in anderen Fällen sank sie sofort bei Luftbewegung. Im Durchschnitt jedoch änderte sie sich nicht, wenn das Gebläse in Tätigkeit war.

Hautverlust durch Entfernung der Kleidung und Luftströmung.

Aus Tabelle III ist ersichtlich, daß bei fünf Versuchen der Hautverlust am bekleideten Objekt in unbewegter Luft im Durchschnitt 10,8 g pro Stunde betrug. Bei einer größeren Reihe von 19 Versuchen am unbekleideten Objekt und in unbewegter Luft war der Durchschnittshautverlust im wesentlichen der gleiche, nämlich 11,0 g. Es kann also hieraus mit Recht gefolgert werden, daß die Entkleidung praktisch ohne Wirkung auf den Hautverlust ist, obgleich die Versuche gewöhnlich an verschiedenen Tagen gemacht wurden. Aus den Versuchen über die Wirkung bewegter Luft auf den Hautverlust ist ersichtlich, daß ebenso wie beim Gesamtverlust, der Luftstrom aus dem Gebläse auch auf den Hautverlust des nackten Körpers keinen wesentlichen Einfluß hat. An besonderen Tagen, wo der Verlust der unbekleideten Haut sowohl mit als ohne Gebläse bestimmt wurde, ergaben zwei Fälle größere Gewichtsverluste mit dem Gebläse und sieben Fälle geringeren Verlust, aber der Durchschnittswert, 10,2 g für den Verlust der nackten Haut mit Gebläse, ist im wesentlichen derselbe wie ohne Gebläse. Der Ventilator kann deshalb als bedeutungslos angesehen werden.

Allgemeine Schlußfolgerungen betreffs Gesamtverlust und Hautverlust.

Die Zahlen bei den Versuchspersonen in den Tabellen II und III zeigen einen gesamten unsichtbaren Verlust von ungefähr 20 bis 40 g pro Stunde bei gesunden Personen an. Der Hautverlust beträgt gewöhnlich ungefähr 50 % des Gesamtverlustes, im Durchschnitt 11 bis 13,8 g pro Stunde, zum großen Teil abhängig von der Größe des Individuums. Sowohl Gesamtverlust als Hautverlust werden, wenigstens bei der besonders eingehend beobachteten Versuchsperson (Frl. *W.*), praktisch weder durch Entfernung der Kleidung noch durch Luftströmung aus einem kräftigen elektrischen Gebläse beeinflußt. Da

der Hautverlust ausschließlich als Wasserverlust angesehen werden kann, ergibt seine Bestimmung nach dem oben skizzierten Verfahren eine genaue Messung des von der Haut verdampften Wasserdampfes, sowohl bei normaler Bekleidung als unbekleidet, beidemal wiederum mit und ohne Luftstrom des elektrischen Gebläses. Ein auffallendes Charakteristikum für dieses Stadium unserer Untersuchung ist der Umstand, daß unsere für diesen Hautverlust gewonnenen Werte niedriger als die in anderen Laboratorien beobachteten sind, obwohl bei unseren Messungen sogar der Verlust von Gesicht und Stirn mit eingeschlossen war, der gewöhnlich bei anderen Versuchen unter Anwendung der Kammermethode nicht mit einbegriffen war.

Methode zur Bestimmung des Verlustes durch die Lungen.

Die Abgabe von Kohlendioxyd wird gewöhnlich nicht mit dem geschlossenen System des Atemapparats gemessen; ihre Messung ist aber notwendig bei der Bestimmung des Grundumsatzes mittels Spirometer und technischer Gasanalyse. Im allgemeinen können Sauerstoffverbrauch und Kohlendioxydproduktion eines Individuums leicht und schnell gemessen werden. Der durch die Lungen abgegebene Wasserdampf wird jedoch gewöhnlich nicht beachtet. Der *Rubner*sche Helm[1]) bedeutet einen bestimmten Fortschritt in dieser Frage, aber, wie er selbst zeigte, schließt diese Messungsmethode den Wasserverlust durch Gesicht und Stirn zusammen mit dem durch die Lungen ein. Der Schluß ist so wenig sicher, daß in Verbindung mit unseren Messungen der gesamten Perspiratio insensibilis und des Hautverlustes eine Reihe von Versuchen zu einer möglichst vollständigen Analyse aller Ursachen der gesamten Perspiratio insensibilis ausgeführt wurde. Obwohl festgestellt wurde, daß die eine Hälfte des Gesamtverlustes aus der Haut stammt und die andere Hälfte aus den Lungen, erschien bei diesen Versuchen die Berücksichtigung des Lungenverlustes wünschenswert.

Bei der Bestimmung der einzelnen Faktoren des respiratorischen Gasaustausches durch die Lungen, nämlich der Kohlendioxydabgabe, der Sauerstoffeinnahme und des ausgeatmeten Wasserdampfes, sind gewisse technische Änderungen für die Messung des Hautverlustes allein wesentlich. So ist es für die Messung des Hautverlustes nur nötig, sowohl Wasserdampf als Kohlendioxyd aus den Lungen in einem gemeinsamen Behälter mit Natronkalk aufzufangen; um aber Wasserdampf und Kohlendioxyd aus den Lungen quantitativ zu bestimmen, ist die gesonderte Absorption eines jeden Gases erforderlich. Die Produkte der Atmung werden deshalb beim Austritt aus den Lungen

[1]) *Rubner*, Arch. f. Hygiene **33**, 151, 1898.

mittels eines Rotationsgebläses fortgeleitet, und zwar erstens durch eine Flasche mit Schwefelsäure, um den gesamten Wasserdampf, zweitens durch eine Flasche mit Natronkalk, um die Kohlensäure zu absorbieren, und drittens durch eine zweite Flasche mit Schwefelsäure, um das von dem etwas feuchten Natronkalk abgegebene Wasser zu binden. Die Gewichtszunahme der ersten Flasche stellt den ausgeatmeten Wasserdampf und die Gewichtszunahme der beiden nächsten Flaschen das ausgeatmete Kohlendioxyd dar. Durch Wiegen des Sauerstoffzylinders vor und nach dem Versuch erhält man den Sauerstoffverbrauch. Da die Versuchszeiten gewöhnlich 40 bis 60 Minuten betragen, sind die Gewichte groß genug, um bemerkenswerte Fehler auszuschalten, obgleich gewöhnlich eine auf $^1/_{100}$ g empfindliche Wage angewendet wird. Da bei dieser Anordnung die Schwefelsäure zur Absorption des Wassers dient, ist es selbstverständlich unpraktisch, die Reagentien über der Versuchsperson aufzuhängen; der ganze Absorptionsapparat (einschließlich des Motors) wird daher auf einem unter dem Ruhebett schwingenden Brette aufgestellt. Außerdem ist

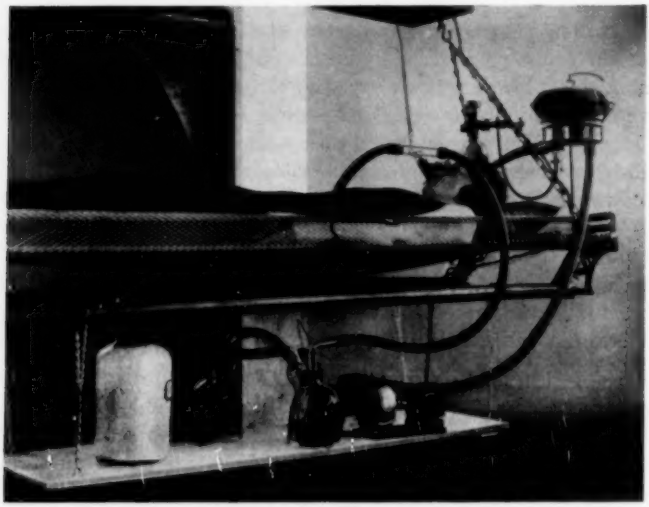


Abb. 5.

Einzelheiten der Apparatur zur Trennung der Atemprodukte.

Die durch den Mund ausgeatmete Luft wird mittels eines Rotationsgebläses, das auf einem Brett unter dem Ruhebett aufgehängt ist, durch eine Glasflasche mit Schwefelsäure dann durch Natronkalk und dann durch eine zweite Flasche mit Schwefelsäure geleitet. Danach wird sie durch das Gebläse in eine mit einer Badekappe bedeckte kleine Expansionskammer getrieben und von dort zu dem T-Rohr, das mit dem Mund in Verbindung steht. Ein kleiner Sauerstoffzylinder ist an einer der Kettenstützen am Kopfende des Bettes befestigt und direkt mit der Expansionskammer verbunden. Die ganze Apparatur hängt mitsamt der Versuchsperson an dem Wagebalken frei über dem Fußboden.

eine Expansionskammer nötig; als solche dient ein kleiner leerer, metallener Behälter, der mit einer Badekappe bedeckt, an einem Metallstab befestigt ist, der mittels Klammern an dem Bette angebracht ist. Die ganze Apparatur ist in Abb. 5 dargestellt.

Die Versuchsperson atmet durch diese Apparatur; der Zeitpunkt, wo der Knopf auf der Kappe über der Expansionskammer gerade den metallenen Zeiger berührt, wird notiert, ebenso die Zeit, die erforderlich ist, um das ganze System auf der großen Wage ins Gleichgewicht zu bringen; der Versuch kann ohne Unterbrechung fortgeführt werden, wobei man langsam Sauerstoff in das System einströmen läßt, je nachdem die Versuchsperson ihn benötigt. Am Schluß des Versuchs erhält man dann folgende Daten:

1. Den Gewichtsverlust des ganzen an der Wage aufgehängten Systems (Versuchsperson plus Atemapparat plus Absorptionssystem), der dem Hautverlust gleichkommt.
2. Die Gewichtszunahme der ersten Schwefelsäureflasche, welche dem durch die Lungen abgegebenen Wasser entspricht.
3. Die Gewichtszunahme der Natronkalkflasche und der zweiten Schwefelsäureflasche, welche das ausgeatmete Kohlendioxyd anzeigt.
4. Den Gewichtsverlust des Sauerstoffzylinders, welcher direkt den Sauerstoffverbrauch ergibt.

Wenn man unmittelbar vor oder nach diesem Versuch den gesamten unsichtbaren Verlust durch Wägung der Versuchsperson auf der Wage ohne Verbindung mit der Atmungsapparatur feststellt, hat man alle Zahlen zur Hand, um die gesamte Perspiratio insensibilis, die Verteilung des Verlustes zwischen Haut und Lungen und die quantitative Bestimmung der einzelnen Faktoren des Gasstoffwechsels zu errechnen. Mit dieser Ausrüstung ist es außerdem noch möglich, die Wirkung verschiedener dazu kommender Faktoren zu studieren, wie Bekleidung, Luftströmung mit oder ohne Kleidung und Änderungen in der Temperatur der Umgebung.

Vergleich des Hautverlustes mit den Produkten der Atmung.

Um den Hautverlust mit den Produkten der Atmung zu vergleichen, haben wir an vier Versuchspersonen eine Reihe von Versuchen angestellt. An dem berufsmäßigen Künstlermodell wurden ausgedehnte Versuche gemacht, ohne Kleidung sowohl in unbewegter als in bewegter Luft, mit Kleidung in unbewegter Luft. Als Ergänzung nahmen wir sicherheitshalber Messungen an drei anderen gesunden Personen vor, mit Kleidung und bei unbewegter Luft. Die Resultate

Tabelle IV.

Vergleich zwischen Hautverlust und Produkten der Atmung. (Stundenwerte.)

a	b	c	d	e	f	g
			Produkte der Atmung			Gesamtverlust durch die Lungen (d + e − f)
Name und Datum 1926	Gebläse	Hautverlust g	Wasserdampf g	Kohlendioxyd g	Sauerstoff g	g
Frl. *W.*, 60,0 kg, nackt						
8. II.	ohne	13,7	8,33	19,59	16,82	11,10
11. II.	„	11,8	7,04	20,58	16,77	10,85
11. II.	mit	10,6	7,56	20,90	17,71	10,75
12. II.	ohne	11,3	6,67	20,31	16,78	10,20
12. II.	mit	10,2	7,47	21,51	19,23	9,75
18. II.	ohne	14,3	7,55	17,62	14,49	10,68
18. II.	mit	10,3	7,90	18,69	16,06	10,53
19. II.	ohne	13,0	7,06	17,49	14,77	9,78
20. II.	„	10,7	7,30	19,64	16,84	10,10
20. II.	mit	7,9	7,46	20,71	18,56	9,61
25. II.	ohne	8,8	6,41	20,61	17,63	9,39
26. II.	mit	8,4	7,29	22,55	19,82	10,02
1. III.	„	8,6	7,27	21,76	19,17	9,86
3. III.	ohne	15,4	7,34	17,55	15,19	9,70
3. III.	mit	12,5	7,38	19,05	16,98	9,45
5. III.	ohne	11,9	7,84	18,63	16,28	10,19
5. III.	mit	13,7	7,56	19,68	16,88	10,36
10. III.	ohne	8,9	7,05	18,08	16,77	8,36
24. III.	„	7,6	8,13	17,08	15,36	9,85
4. V.	„	13,8	8,05	17,64	15,10	10,59
4. V.	mit	10,5	7,73	18,15	16,06	9,82
5. V.	„	7,9	8,29	17,59	15,71	10,17
10. V.	„	8,8	8,37	17,29	16,36	9,30
Durchschnitt:		10,9	7,52			10,02
Frl. *W.*, 60,0 kg, bekleidet	ohne					
26. II.	„	—	8,00	17,14	15,32	9,82
1. III.	„	—	7,54	18,55	15,98	10,11
3. V.	„	—	8,56	17,21	14,53	11,24
Frl. *G.*, 68,1 kg, bekleidet	„	15,4	8,8	21,59	17,88	12,51
Herr *B.*, 78,9 kg, bekleidet	„	16,2*)	12,05	26,66	20,24	18,47
Herr *C.*, 67,2 kg, bekleidet	„	14,6*)	9,81	21,88	17,58	14,11

*) Durchschnittswert in Tabelle II angegeben.

dieser Versuche sind in Tabelle IV verzeichnet [1]). Ohne weitere Erörterung des Hautverlustes bei Versuchen mit und ohne Gebläse (bereits in Tabelle III dargestellt) und ohne Berücksichtigung des Sauerstoffverbrauchs oder der Kohlendioxyderzeugung als Maß für den Gasumsatz oder die Berechnung respiratorischer Quotienten, wollen wir gleich zu dem wichtigsten Abschnitt dieser Arbeit übergehen, nämlich der Betrachtung des durch die Lungen verdampften und abgegebenen Wassers und dem Vergleich durch Wägung zwischen Einnahme und Ausgabe der Lunge einerseits und des Hautverlustes andererseits.

Verdampfung durch die Lungen.

Auf die stündliche Wasserverdampfung durch die Lungen wird selbstverständlich besonderer Nachdruck gelegt. Bei den Versuchen an dem unbekleideten Frl. *W.* bleibt die Wasserabgabe aus den Lungen eigentümlich konstant, 6,4 g minimal, 8,37 g maximal, im Durchschnitt 7,52 g. Ist dieselbe Versuchsperson bekleidet, so beträgt nach den drei in Tabelle IV verzeichneten Versuchen der Wasserdampf im Durchschnitt ungefähr 8 g, und der höchste Wert 8,56 g ist in der Tat höher als jemals beim unbekleideten Objekt. Diese Daten berechtigen jedoch nicht zu der Schlußfolgerung, daß die Kleidung die Wasserdampfabgabe durch die Lungen bei diesem Objekt bedeutend beeinflußt hat. Bei einer zweiten weiblichen Versuchsperson, Frl. *G.*, zeigten die Resultate eines einzigen Versuchs einen Stundenwert von 8,8 g für das durch die Lungen verdampfte Wasser. Bei einem großen Manne, Herrn *B.*, betrug der Durchschnittswert aus zwei Zeitabschnitten 12,05 g, und bei einem anderen, Herrn *C.*, der Durchschnitt aus sechs Zeitabschnitten, 9,81 g. Diese Werte verhalten sich ungefähr proportional dem Körpergewicht, indem die schwerere Versuchsperson die größere Menge Wasserdampf durch die Lungen abgibt.

Vergleich zwischen Hautverlust und Wasserverdampfung durch die Lungen.

Der Durchschnittshautverlust bei Frl. *W.* beträgt bei den Versuchen ohne Kleidung pro Stunde 10,9 g und der Durchschnittswasser-

[1]) Bei den Versuchen an dem unbekleideten Fräulein *W.* bieten die in Tabelle IV angeführten Zahlen zum Studium des Hautverlustes mit und ohne Gebläse einen besseren Vergleich als diejenigen der Tabelle III. In allen Fällen, einen einzigen ausgenommen (5. Mai), bei denen ein derartiger Vergleich gezogen werden kann, besteht die Wirkung des über den Körper streichenden Luftstroms darin, eine *Abnahme* des Hautverlustes hervorzurufen, ein Ergebnis, das nur wenig von den mehr allgemeinen Vergleichen bei der Besprechung der Tabelle III abweicht. Wenn der Ventilator in Tätigkeit ist, besteht ein kleiner, wenn auch wahrscheinlich unbedeutender Ausgleich in einem *vermehrten* Wasserdampfverlust aus den Lungen. Dieser wird zweifellos durch die etwas erhöhte Atmung hervorgerufen, die notwendigerweise aus dem ein wenig gesteigerten Stoffwechsel resultiert.

verlust durch die Lungen 7,52 g. Da der Hautverlust hauptsächlich als aus Wasser bestehend betrachtet werden kann, muß die Haut als Quelle der Abgabe von Wasser allein, wenigstens unter den genannten experimentellen Bedingungen, 59% des gesamten Wassers abgeben, während 41% den Körper durch die Lungen verlassen. Bei den wenigen in Tabelle III angeführten Versuchen an Frl. *W.* betrug der Durchschnittshautverlust mit Kleidung 10,8 g, also im wesentlichen ebensoviel wie in der eben beschriebenen Versuchsreihe.

Gesamter Stoffverlust durch die Lungen.

Kohlendioxydabgabe und Sauerstoffeinnahme sollten bei diesem Vergleich nur insoweit betrachtet werden, als das Gleichgewicht zwischen beiden von Interesse ist. Will man das Gewicht des gesamten Stoffverlustes aus den Lungen bestimmen, so addiere man die Gewichte des Wassers und das des ausgeatmeten Kohlendioxyds und ziehe davon das Gewicht des verbrauchten Sauerstoffs ab. Eine Korrektur für das in die Lungen eintretende Wasser ist nicht nötig, da bei der angewendeten Technik die Versuchsperson trockene Luft einatmet. Diese Berechnung ist in Spalte g der Tabelle IV aufgestellt. Die so erhaltenen Werte sind wieder eigentümlicherweise konstant, schwanken bei der Versuchsreihe mit Frl. *W.* nur zwischen 8,36 bis 11,24 g. Die Durchschnittswerte für die unbekleidete Versuchsperson betragen 10,02 g, bei den anderen drei Personen 12,51, 18,47 und 14,11 g.

Hautverlust, verglichen mit dem Gesamtstoffverlust aus den Lungen.

Der Durchschnittshautverlust von Frl. *W.* in den Versuchsreihen am unbekleideten Objekt (Tabelle IV) beträgt beim Vergleich mit dem durchschnittlichen Gesamtstoffverlust aus den Lungen bis zu 52% der gesamten Perspiratio insensibilis, wie bereits vermutet. Bei Frl. *G.* beträgt der Hautverlust im Vergleich zum Gesamtstoffverlust aus den Lungen 55% der gesamten Perspiratio insensibilis. Bei Herrn *B.* und Herrn *C.* wurde der Hautverlust in den in Tabelle IV angegebenen Versuchen nicht bestimmt. Aber bei den in Tabelle II angegebenen Versuchen beträgt der Durchschnittshautverlust von Herrn *B.* 16,2 g und bei den vier Versuchen an Herrn *C.*, ebenfalls in Tabelle II angeführt, 14,6 g. Diese Werte ergeben einen Hautverlust von 47 bzw. 51% des Gesamtverlustes. Die Durchschnittswerte von 55 und 51% bei Frl. *G.* und Herrn *C.* sind etwas höher als der Durchschnittswert von 49% an zehn Versuchspersonen (s. Tabelle II). Andererseits ist der Durchschnittswert von 47% bei Herrn *B.* fast genau derselbe wie der Durchschnittswert von Tabelle II. Nach dieser selbständigen Methode der Bestimmung des Gesamtverlustes aus dem ganzen Körper,

d. h. durch Addition von Haut- und Gesamtverlust aus den Lungen (berechnet aus der Summe von ausgeatmetem Kohlendioxyd und Wasserdampf minus verbrauchtem Sauerstoff), ist das Verhältnis von Hautverlust zu Gesamtverlust im wesentlichen dasselbe, wie nach der Methode, bei welcher der gesamte Gewichtsverlust des Körpers und dann der Hautverlust gemessen wird, wenn der Hautverlust dem Gesamtverlust zugeteilt wird. Der Unterschied in diesen Ziffern bewegt sich in derartigen Grenzen, daß man im allgemeinen unter diesen experimentellen Bedingungen für den Hautverlust die Hälfte des Gesamtkörperverlustes ansetzen kann.

Verhältnis zwischen Lungenatmung und aus den Lungen ausgeatmetem Wasserdampf.

Einer der wichtigsten Faktoren bei der Bestimmung der Wassermenge, die aus den Lungen kommt, wäre, wenigstens in der Theorie, das Volumen der in die Lungen einströmenden Luft. Als weitere Faktoren kommen hinzu, das Wasser in der einströmenden Luft, die Temperatur der ausgeatmeten Luft und deren Sättigungsgrad. Für eine genaue Untersuchung dieser Verhältnisse muß erstens das wirkliche Luftvolumen, das durch den Mund einströmt, und zweitens die Durchschnittstemperatur der ausgeatmeten Luft bekannt sein. Beim Gebrauch des in Abb. 5 abgebildeten Apparats wird die Luft vor dem Einströmen in den Mund über Schwefelsäure getrocknet; ihre Feuchtigkeit kann deshalb hier gleich Null angesehen werden. Ohne Frage findet bei jeder Ausatmung ein Feuchtigkeitsniederschlag auf dem kurzen Wege vom Mundstück zum T-Rohr statt. Man kann tatsächlich diesen leichten Niederschlag am Glase des T-Rohres sehen; deshalb ist es äußerst wünschenswert, daß das Rohr aus Glas besteht. Bei jeder Einatmung hellt sich dieser leichte Niederschlag sofort auf. Dieses Phänomen ist tatsächlich ein sehr guter Indikator für wirksame Luftströmung und normale Atmung; es zeigt an, daß genügende Durchlüftung stattfindet.

Die Messung des Gesamtvolumens der in den Mund einströmenden Luft mit dem Apparat in Abb. 5 ist unpraktisch, denn die Badekappe hat eine unregelmäßige Oberfläche, deren Heben und Senken graphisch nicht exakt aufgezeichnet werden kann. Es wurden daher eine Anzahl Ergänzungsversuche gemacht, bei denen die Badekappe durch ein empfindliches Spirometer, wie es bei den zahlreichen Atemapparaturen des Nutrition Laboratory[1]) in Gebrauch ist, ersetzt wurde. Es ist natürlich möglich, dieses Spirometer auf dem Ruhebett und auf der Wage aufzuhängen, aber das ist durchaus nicht praktisch. Man stellt

[1]) *Benedict*, Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethod. 1924, Abt. IV Teil 10, S. 455, 494, 582 und 598.

Tabelle V.

Vergleich zwischen Durchlüftung (nicht reduziert) und ausgeatmetem Wasserdampf. (20-Minuten-Werte.)

Versuchsperson, Datum und Perioden 1926	Bedingungen	Sichtbare Durchlüftung Liter	Ausgeatmeter Wasserdampf g
Frl. W.			
26. III. 1	Nackt, mit Decken zugedeckt	89,9	2,72
2	" " " "	90,7	2,67
3	" " " "	86,5	2,62
4	" " " "	91,1	2,69
5	" " " "	102,0	2,97
29. III. 1	" " " "	95,9	2,92
2	" " " "	92,2	2,69
3	" " " "	94,1	2,76
4	" " " "	93,6	2,81
5	" " " "	77,9	2,71
6	" " " "	96,9	2,95
7	" " " "	100,8	2,99
31. III. 1	" " " "	90,9	2,79
2	" " " "	92,9	2,66
3	" " " "	86,3	2,65
4	" " " "	82,6	2,40
5	Nackt	98,3	2,87
6	"	96,6	2,80
2. IV. 1	Nackt, mit Decken zugedeckt	85,9	2,67
2	" " " "	83,5	2,50
3	" " " "	73,6	2,31
4	Nackt	92,6	2,86
5	"	84,4	2,61
6	"	83,8	2,66
5. IV. 1	Nackt, mit Decken zugedeckt	84,1	2,57
2	" " " "	82,0	2,49
3	Nackt	78,9	2,36
4	"	93,1	2,79
5	"	97,4	2,73
6	"	95,8	2,80
7	"	94,1	2,69
7. IV. 1	Nackt, mit Decken zugedeckt	79,8	2,43
2	" " " "	83,3	2,46
3	Nackt	93,2	2,63
4	"	93,4	2,66
5	"	93,7	2,64
6	"	95,2	2,81
9. IV. 1	Nackt, mit Decken zugedeckt	82,4	2,47
2	" " " "	80,3	2,39
3	Nackt	91,1	2,63
4	"	92,3	2,64
5	"	90,8	2,58
6	"	93,6	2,74
7	Nackt, Beinübung	129,2	3,91

Tabelle V (Fortsetzung).

Versuchsperson, Datum und Perioden 1926	Bedingungen	Sichtbare Durchlüftung Liter	Ausgeatmeter Wasserdampf g
Herr *C.*			
27. III. 1 . . .	Bekleidet	112,2	3,33
2 . . .	„	115,5	3,45
3 . . .	„	109,5	3,19
4 . . .	„	118,4	3,36
5 . . .	„	110,6	3,20
6 . . .	„	113,3	3,09
Herr *B.*			
5. IV. 1 . . .	Bekleidet	126,6	4,10
2 . . .	„	119,6	3,94
3 . . .	Bekleidet, Muskelübung	297,0	7,86

es daher auf einen Tisch neben die Versuchsperson. Das Spirometer wird durch ein zum Munde führendes T-Rohr mit dem Kreislaufsystem verbunden, d. h. dort, wo trockene Luft das T-Rohr passiert. Um Wasseraustritt aus dem ringförmigen Raume und der Glocke des Spirometers in den Atemkreislauf hinein zu verhindern, wird ein Calciumchloridrohr mit einem Durchmesser von 3 cm zwischen Spirometer und Kreislauf eingeschaltet. Bei jeder Ausatmung strömt eine gewisse Menge trockener Luft über das Calciumchlorid in das Spirometer, und bei jeder Einatmung strömt feuchte Luft aus dem Spirometer aus, wird durch das Calciumchlorid getrocknet und tritt trocken in den Atemkreislauf ein. Es tritt also kein Wasserdampf hinzu, und die Bewegungen der Spirometerglocke können durch das Heben und Senken auf einem Kymographen aufgezeichnet und gemessen werden. Die Temperatur der Glocke wird aufgezeichnet, ebenso der Barometerstand; die Luft in der Glocke kann als gesättigt angenommen werden.

Mit dieser Anordnung der Apparatur wurden sichtbare Atmung und Wasserdampfatmung (durch Wägung der Schwefelsäureflasche) in einer Reihe von Versuchen an drei Versuchspersonen gemessen; die Resultate zeigt Tabelle V. Die Versuchszeiten betrugen nur 20 Minuten, und nicht 40 bis 60 Minuten, wie bei den anderen Versuchsreihen, da man in 20 Minuten genügend Wasser für genaue Wägungen sammeln konnte. Die Temperatur der Luft, die in den Mund einströmte, betrug gewöhnlich 17 bis 20° C (Zimmertemperatur). Selbstverständlich wurden in Verbindung mit der Temperaturmessung der ausgeatmeten Luft für die folgende Betrachtung und für die weitere Ausarbeitung der Beziehung zwischen respiratorischem Volumen, Temperatur der ausgeatmeten Luft und deren Sättigungsgrad alle notwendigen Zahlen aufgezeichnet, aber hier nicht wiedergegeben.

Nach Tabelle V ist es klar, daß im allgemeinen der ausgeatmete Wasserdampf der Atmung annähernd proportional ist. Da letztere bei den neuesten Versuchen ziemlich gleich blieb, besteht auch bei der Menge des Wasserdampfes keine große Veränderlichkeit. Bei den Versuchen an Frl. *W.* fällt die niedrigste Atmung, 73,6 Liter, mit der niedrigsten Wasserdampfabgabe, 2,31 g, zusammen. An einem Tage stieg bei mäßiger körperlicher Tätigkeit, einigen leichten Beinübungen, die Atmung auf 129 Liter und zur selben Zeit wurde auch die Höchstmenge von Wasserdampf, nämlich 3,91 g produziert. Bei Herrn *C.* erhielten wir eine ziemlich gleichmäßige Wasserdampfausatmung, bei einer selbstverständlich viel höheren Lungenatmung. Aus der Atmung und der Wasserabgabe bei Herrn *C.* ist es auch klar ersichtlich, daß im allgemeinen eine enge Beziehung zwischen diesen beiden Faktoren besteht. Ferner ist es auffallend, daß Frl. *W.* bei Körperübung eine Atmung von 129 Litern und eine Wasserabgabe von 3,91 g hatte, also Werte, die in bemerkenswerter Weise mit den Werten in den ersten zwei Perioden bei Herrn *B.* übereinstimmen, nämlich durchschnittlich 123 Liter bzw. 4,04 g. Die Wirkung von Muskeltätigkeit auf Atemvolumen und ausgeatmeten Wasserdampf zeigt sich in der dritten Periode an Herrn *B.*, wo das Atemvolumen auf 297 Liter und der Wasserdampf auf 7,86 g anstiegen.

Alle Versuche an Herrn *B.* und Herrn *C.* wurden in bekleidetem Zustande ausgeführt. Bei Frl. *W.* fanden über die Hälfte der Versuche, gewöhnlich die ersten einer jeden Reihe, dann statt, wenn sie unbekleidet, aber mit Decken gut zugedeckt war; bei den letzten Versuchen einer jeden Reihe wurden dann die Decken entfernt. Eine Erörterung darüber, welche Wirkung das Entfernen der Decken auf Stoffwechsel, Wasserabgabe und Lungenatmung hatten, liegt außerhalb des Zweckes dieser Arbeit. Im allgemeinen kann man sagen, daß, je größer die Lungenatmung, desto stärker auch die Wasserabgabe ist, wie es bei Frl. *W.* und Herrn *B.* bei Körperübungen auffiel, und man kann annehmen, daß die Beziehung zwischen Wasserabgabe durch die Lungen und Gesamtatmung eine sehr enge ist. Für ein exaktes Studium einer solchen Beziehung ist selbstverständlich die Kenntnis der reduzierten Atmung, der Durchschnittstemperatur der ausgeatmeten Luft nötig und ohne Zweifel auch der Größe des toten Raumes. Dieser Abschnitt der Untersuchung wird eben jetzt bearbeitet.

Verhältnis zwischen dem durch die Lungen abgegebenen Wasser und dem Wasser der gesamten Perspiratio insensibilis.

Bei der langen Versuchsreihe bei Frl. *W.*, im unbekleideten Zustande, betrug nach Tabelle IV die stündliche Wasserdampfabgabe 7,52 g und der durchschnittliche Gesamtstoffverlust aus den Lungen

10,02 g. Es sind also 75% des letzteren (d. h. der Summe aus den Gewichten des ausgeatmeten Wasserdampfes und Kohlendioxyds weniger dem Gewicht des verbrauchten Sauerstoffs) dem Wasser zuzuschreiben. Bei den drei Versuchen an diesem Objekt im bekleideten Zustande beträgt das Wasser im Durchschnitt 77% des gesamten Lungenverlustes. Bei Herrn *C.* beträgt das durch die Lungen abgegebene Wasser 70% des Gesamtverlustes, bei Frl. *G.* 70% und bei Herrn *B.* 65%. Es erscheint daher die Feststellung berechtigt, daß in körperlicher Ruhe ungefähr 75% des gesamten Verlustes durch die Lungen auf Wasser entfallen. Im allgemeinen haben wir gefunden, daß der Hautverlust bei unseren Versuchspersonen ungefähr 50% der gesamten Perspiratio insensibilis betrug und in der Hauptsache als Wasser angesehen werden kann. Die übrigen 50% können dem Verlust durch die Lungen zugeschrieben werden. Wenn 75% des Lungenverlustes auf das Wasser entfallen, ist es einleuchtend, daß 87,5% der gesamten Perspiratio insensibilis des Körpers als Wasser aus Haut und Lungen betrachtet werden können.

In modernen Kliniken schenkt man der Wasserbilanz oder dem Wasserverlust durch den Körper große Aufmerksamkeit, gänzlich ohne Rücksicht auf deren Beziehung zum Stoffwechsel einerseits oder zum Wärmeverlust andererseits. Die Verluste in Form von sichtbarem Wasser, wie im Stuhl und Urin, sind verhältnismäßig leicht zu bestimmen. Die Bestimmung des Wasserverlustes durch Haut und Lungen ist viel komplizierter, da bis jetzt eine besondere Atmungskammer erforderlich gewesen ist. Aus unseren Resultaten geht klar hervor, daß bei sorgfältiger Messung der Perspiratio insensibilis, wie sie hier vorgenommen wurde, 87,5% der Perspiratio insensibilis mit Sicherheit dem Wasser zuzuschreiben sind.

Wir sind uns klar, daß die Ergebnisse für die gesamte Perspiratio insensibilis und den Hautverlust allein erweitert werden müßten, obwohl die Bestimmungen an zehn Personen vorgenommen wurden, und daß Versuche zum Vergleich des Hautverlustes und der Produkte der Atmung sicherlich weiter ausgearbeitet werden müßten, wenn sie auch an einer Person ausgiebig studiert wurden. Ebenso wissen wir, daß unsere Ergebnisse sich zum größten Teile auf Personen in gutem Gesundheitszustande beziehen, d. h. auf normale Individuen, und daß sich das Bild bei genauer beobachteten pathologischen Fällen wesentlich ändern würde. Die nötige Ausdauer, ein Mundstück 40 bis 60 Minuten lang im Munde zu halten, könnte wohl ausgedehnte Experimente an lebhaften Patienten unmöglich machen. Wir zweifeln ernstlich, ob statt dessen ganze oder halbe Gesichtsmasken angewendet werden können; denn dadurch entstehen sofort die Fehler, die wir bei vielen anderen Untersuchern vermuten, bei denen der Verlust

aus der stark durchbluteten Haut des Gesichts und der Stirn (mit deren zweifellos hohen Temperaturen und folglich beträchtlichem Wasserverlust) zu Unrecht den Lungen, statt vielmehr der Haut allein zugeschrieben wurde. Die Möglichkeit, Nasenstücke anzuwenden, ist noch nicht erschöpft.

Wir halten es nicht für richtig, die Versuchsperson in einer Atemkammer, mit dem Kopf außerhalb derselben, einzuschließen, und wir möchten wiederholt besonders vor dem Gebrauch selbst des besten Haarhygrometers warnen. Das feuchte und trockene Kugelpsychrometer ziehen wir weitaus vor, jedoch ist die mühsame, zeitraubende Wägung des Wassergehalts in U-Röhren mit Schwefelsäure noch besser. Wir halten es kaum für wahrscheinlich, daß weitere Experimente eine große Veränderung in den Werten für das Verhältnis zwischen Hautverlust und Gesamtverlust und das Verhältnis des Atmungswassers zu den gesamten Produkten der Atmung bei Gesunden ergeben werden, und ebensowenig erscheint es nach den Resultaten in unseren Tabellen wahrscheinlich, daß definitive Beziehungen zwischen Sauerstoffverbrauch, Kohlendioxyderzeugung und Wasserdampfabgabe festgestellt werden können. Der Einfluß des toten Raumes und der (tatsächlichen) Atmung, zusammen mit der Frage nach der Temperatur der ausgeatmeten Luft, werden augenblicklich weiterhin erforscht. Gewisse vorläufige Befunde in dieser Hinsicht wurden von einem von uns in Vorlesungen an zahlreichen europäischen Universitäten im Herbst 1926 mitgeteilt[1]).

[1]) *Benedict*, Bull. Soc. Sci. d'Hygiene Alim. 1927.

Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrat-phosphorsäureester auf die Angärung des Traubenzuckers.

Von

Paul Mayer (Karlsbad).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 26. Februar 1927.)

Kinetische Untersuchungen über den Ablauf der zellfreien alkoholischen Zuckerspaltung haben gelehrt, daß vor dem Eintritt des eigentlichen Zerfalls in Weingeist und Kohlendioxyd eine mehr oder minder lange Ruhepause liegt, die schon von *E. Buchner*[1]) erwähnt, von *A. Harden* und *W. J. Young*[2]) beschrieben und im Anschluß an das *Bunsen-Roscoe*sche Phänomen von *A. v. Lebedew*[3]) als Induktionsperiode bezeichnet worden ist. Erst nach deren Überwindung vergärt der Zucker mit einer innerhalb kürzerer Intervalle angenähert vergleichbaren Geschwindigkeit. *O. Meyerhof*[4]) hat nun gezeigt, daß jenes Induktions-Intervall ganz wesentlich verkleinert werden kann, wenn man Spuren von hexose-di-phosphorsaurem Salz zu den Gäransätzen hinzufügt. Es liegt also die Vermutung nahe, daß die Induktionsperiode darin begründet ist, daß erst Hexose-di-phosphorsäure in dem Ferment-Substrat-System synthetisiert werden muß. Freilich haben *A. Harden* und *F. R. Henley*[5]) diese Rolle zugefügten Zymo-di-phosphats nicht regelmäßig festzustellen vermocht, und *P. Boysen Jensen*[6]) hat im Anschluß an *C. Neubergs* Untersuchungen über die große Zahl chemisch definierter Katalysatoren der alkoholischen Gärung dargetan, daß der typische Hexose-di-phosphorsäure-ester auch nicht den einzigen Aktivator für die Zuckerspaltung darstellt, sondern daß Spuren von

[1]) *Buchner* und *Hahn*, Zymasegärung.

[2]) *A. Harden* und *W. J. Young*, Proc. Roy. Soc. **81**, 336, 1909; Ch. C. **1909**, II, 2027.

[3]) *A. v. Lebedew*, Ann. Inst. Pasteur **26**, 16, 1912.

[4]) *O. Meyerhof*, H. **102**, 191, 1918.

[5]) *A. Harden* und *F. R. Henley*, Biochem. Journ. **14**, 642, 1920.

[6]) *P. Boysen Jensen*, diese Zeitschr. **154**, 261, 1924.

Aldehyd sowie von anderen Acceleratoren hierfür ebenfalls verantwortlich zu machen sind und daß diese außerdem den Effekt des Zymo-di-phosphats wesentlich steigern.

Die Bedeutung der Hexose-di-phosphorsäure für den Gärungsprozeß ist neuerdings nun dadurch in den Hintergrund getreten, daß, nach den Untersuchungen von *A. Harden* und *R. Robison* sowie von *R. Robison*[1]) allein, auf dem Gärungswege auch eine Hexose-*mono*-phosphorsäure gebildet wird. Insbesondere haben *C. Neuberg* und seine Mitarbeiter[2]) Beweise dafür beigebracht, daß die Hexose-di-phosphorsäure nicht auf dem Hauptwege der Zuckerumwandlung liegen kann, sondern wegen ihrer mangelnden Vergärbarkeit durch lebende Hefen und wegen ihrer langsamen Vergärbarkeit durch zellfreie Hefensäfte[3]) wahrscheinlich als ein Abfallprodukt oder als ein nur bei ungewöhnlichem Phosphatgehalt entstandenes, gewissermaßen pathologisches Erzeugnis zu betrachten ist. Somit wird neuerdings dem Mono-phosphorsäure-ester von einigen Autoren (*Meyerhof*, *Kluyver* und *Struyk*) die größere Bedeutung für den Prozeß der Zuckerumwandlung beigemessen. Nun ist mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die Hexose-di-phosphorsäure, zu einem gärtüchtigen Zymasesystem gesetzt, zunächst zu Mono-phosphorsäure-estern dephosphoryliert wird. Ersichtlicherweise können dabei, je nach Abspaltung des einen oder anderen Phosphorsäure-restes zwei verschiedene Hexosen-mono-phosphate auftreten, von denen das eine auf rein chemischem Wege vor Jahren von *C. Neuberg*[4]) hergestellt worden ist.

Bei der somit vielleicht wichtigen Rolle der Monophosphate waren Versuche darüber notwendig, wie sich die einzelnen *Mono-phosphorsäure-ester* hinsichtlich der Einschränkung der Induktionsperiode, also in bezug auf die Angärungszeit des Zuckers, verhalten würden.

Geprüft habe ich, stets in Parallele mit Hexose-di-phosphat, den aus diesem durch künstlichen Abbau erhaltenen *Neuberg*schen Ester, ferner den *isomeren Ester von Robison*[5]) sowie den durch partielle Hydrolyse von Saccharo-phosphat entstehenden *Glucose-mono-phosphorsäure-ester*[6]), ferner die *Rohrzucker-phosphorsäure*[7]) selbst sowie

[1]) *A. Harden* und *R. Robison*, Proc. Chem. Soc. **30**, 16, 1914; *R. Robison*, Biochem. Journ. **16**, 809, 1922.

[2]) *C. Neuberg*, *E. Färber*, *A. Lewite* und *E. Schwenk*, diese Zeitschr. **83**, 244, 1917; *C. Neuberg*, ebendaselbst **103**, 320, 1920.

[3]) *C. Neuberg* und *M. Kobel*, diese Zeitschr. **179**, 451, 1926.

[4]) *C. Neuberg*, ebendaselbst **88**, 432, 1918.

[5]) Dargestellt nach *C. Neuberg* und *J. Leibowitz*, ebendaselbst **184**, 489, 1927.

[6]) *C. Neuberg* und *S. Sabetay*, ebendaselbst **162**, 479, 1925.

[7]) *C. Neuberg* und *H. Pollak*, ebendaselbst **23**, 515, 1910; **26**, 514, 1910.

A. 15,0 ccm Saft aus Patzenhofer Trockenhefe + 1,5 ccm 10%iger Glucoselösung.
Entwickelte ccm CO_2:

Zeit	Ohne Zusatz	+ 0,05 hexose-di-phosphors. Magnesium	+ 0,05 Ca-Salz des *Neuberg*-Esters	+ 0,05 Ca-Salz des *Robison*-Esters	+ 0,05 Glucose-mono-phosphat (Ba-Salz)	+ 0,05 Saccharose-mono-phosphat (Ba-Salz)	+ 0,05 Fructose-phosphat (Ba-Salz)	+ 0,025 hexose-di-phosphors. Magnesium	+ 0,025 *Neuberg*-Ester (Ba-Salz)	+ 0,025 *Robison*-Ester (Na-Salz)	+ 0,025 Glucose-mono-phosphat (Ca-Salz)	+ 0,025 Saccharose-mono-phosphat (Ca-Salz)	+ 0,025 Fructose-phosphat (Na-Salz)	15 ccm Saft + 1,5 ccm Wasser (ohne Zucker)
4h40'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 15	0	1,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 25	0	3,4	Spur	Spur	Spur	Spur	Spur	2,6	Spur	Spur	Spur	Spur	0	0
5 40	0,1	5,9	1,8	0,7	0,9	1,2	0,1	6,3	2,8	2,3	1,0	0,8	0,1	0
5 35	2,8	10,4	6,8	6,0	5,5	7,2	1,9	9,9	7,9	7,9	6,0	6,8	1,8	0
6 15	7,2	13,4	9,4	9,5	9,8	10,2	6,6	12,6	10,0	11,3	9,2	8,6	6,0	0

B. 15,0 ccm Saft aus Trockenhefe *Engelhardt* + 1,5 ccm 10%ige Glucoselösung.
Entwickelte ccm CO_2:

Zeit	Ohne Zusatz	+ 0,01 hexose-di-phosphors. Magnesium	+ 0,01 *Neuberg* Ester (Ca-Salz)	+ 0,01 *Robison* Ester (Ba-Salz)	+ 0,01 Glucose-mono-phosphat (Ca-Salz)	+ 0,01 Fructose-phosphat*) (Sr-Salz)	+ 0,01 Saccharose-mono-phosphat (Ca-Salz)	+ 0,005 hexose-di-phosphors. Magnesium	+ 0,005 *Neuberg* Ester (Na-Salz)	+ 0,005 *Robison* Ester (Na-Salz)	+ 0,005 Glucose-mono-phosphat (Ca-Salz)	+ 0,005 Fructose-phosphat (Sr-Salz)	+ 0,005 Saccharose-mono-phosphat (Ca-Salz)	15 ccm Saft + 1,5 ccm Wasser (ohne Zucker)
5h00'	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 45	0	0,7	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1	0,4	0,2	Spur	0	0	0	0
6 20	0,6	3,0	2,8	2,1	0,8	1,3	0,8	2,0	0,9	0,7	0,7	0,5	0,4	0
6 45	1,4	3,5	3,4	2,8	2,7	3,5	3,8	3,4	1,8	1,4	1,4	1,9	3,8	0
7 15	2,6	4,6	4,2	3,9	4,0	4,6	4,6	4,2	2,5	2,0	2,4	2,9	4,4	0
7 35	3,1	4,9	4,8	4,8	5,2	5,4	5,1	4,6	3,4	2,1	3,2	3,8	4,8	0

*) Synthetisches Fructose-phosphat wirkte nur bei diesem Saft deutlich.

schließlich ein *durch künstliche Phosphorylierung*[1]) *von d-Fructose* gewonnenes, allerdings nicht ganz einheitliches Produkt.

Um die in den Versuchsprotokollen niedergelegten Resultate in Worte zu kleiden, läßt sich sagen, daß sich alle die erwähnten Kohlenhydrat-mono-phosphorsäure-ester als gärbeschleunigend erweisen. Am besten wirken der *Neuberg*- und der *Robison*sche Ester; aber auch der Glucose-mono-phosphorsäure-ester und der im Traubenzucker-rest mono-phosphorylierte Rohrzucker besaßen einen unverkennbaren Einfluß. Er blieb zwar überall hinter dem des Zymo-di-phosphats zurück, war aber trotzdem nicht unbeträchtlich, wie der Vergleich mit den einfach Traubenzucker enthaltenden Kontrollansätzen lehrte. Die Phänomene lassen sich natürlich nur bei solchen Säften beobachten, die nicht von Natur aus schon rasch angären.

Somit läßt sich sagen, daß eine den Gärbeginn beschleunigende Kraft allen den genannten, von mir untersuchten natürlichen und künstlich gewonnenen Zucker-mono-phosphorsäure-estern zukommt.

Die benötigten Hefenmazerationssäfte waren zumeist aus *Patzenhofer* Unterhefe, einmal auch aus Unterhefe der *Engelhardt*-Brauerei bereitet.

Die verwendeten Hexose-di-phosphorsäure-ester waren nach den Angaben der Literatur in reiner Form dargestellt und konnten ohne erkennbare Unterschiede im Effekt als Natriumsalze, Barium-, Strontium- oder als Calciumsalze zur Verwendung gelangen. Die Einzelheiten ergeben sich aus den Übersichtstabellen.

---

[1]) Herrn Dr. *J. Wagner* und cand. phil. *K. P. Jacobsohn* danke ich für die Überlassung der Substanz.

Gestufte phytochemische Reduktion.

Von

Günter Nagelschmidt.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 28. Februar 1927.)

Acetoin (Acetyl-methyl-carbinol) und 2, 3-Butylenglykol haben als Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen in den letzten Jahren Interesse erlangt; besondere Beachtung verdient die leichte und unerwartete *Entstehung des Acetoins bei Hefengärungen, durch carboligatische Synthese*, die immer dann erfolgt, wenn Acetaldehyd mit gärtätiger Hefe zusammentrifft[1]). Auch ein natürliches Vorkommen von Diacetyl ist beobachtet (*Aschan, Mazé, Schimmel & Co.*). Die genannten drei Körper der Butanreihe sind wechselseitig dadurch verknüpft, daß sie bei Reduktion und Oxydation ineinander übergehen. Dies ist auf rein chemischem Wege möglich, aber auch durch biochemische Prozeduren. Vor längerer Zeit haben *Neuberg* und *Nord*[2]) gezeigt, daß Diacetyl $CH_3 . CO . CO . CH_3$, von gärender Hefe in 2, 3-Butylenglykol verwandelt wird. *Neuberg* und *Kobel*[3]) haben gefunden, daß Acetoin, $CH_3 . CHOH . CO . CH_3$, gleichfalls β, γ-Dioxybutan, $CH_3 . CHOH . CHOH . CH_3$, bei der phytochemischen Reduktion liefert.

Nach diesen Feststellungen ist in Betracht zu ziehen, daß die Reduktion des Diacetyls über die Stufe des Acetoins vor sich geht. Bei dem symmetrischen Bau des Diacetyls erscheint jedoch auch eine gleichzeitige Hydrierung beider Carbonylgruppen denkbar.

Um über den feineren Mechanismus des Vorganges etwas zu erfahren, habe ich *untersucht, ob sich bei Ausführung der phytochemischen Reduktion von Diacetyl zu Butylenglykol das Acetoin als Zwischenprodukt nachweisen läßt.* Die Möglichkeit hierzu bietet eine sinngemäße

---

[1]) Literatur siehe bei *C. Neuberg* und *M. Kobel, Carboligase*, in Abderhaldens Handb. d. biolog. Arbeitsmethod., Ab. IV, Teil 1, S. 625, 1927.

[2]) *C. Neuberg* und *F. F. Nord*, Ber. **52**, 2248, 1919.

[3]) *C. Neuberg* und *M. Kobel*, diese Zeitschr. **160**, 250, 1925.

entwicklung ein. Nach 18 Stunden wurde an einer im Kohlendioxydstrom abdestillierten Probe auf Diacetyl geprüft: schwach positive Dimethylglyoxim-Reaktion, die hier wie im folgenden stets nach den Angaben der Literatur angestellt wurde. Nach 3 Tagen war das Diacetyl verschwunden. Acetoin war reichlich nach der Destillation mit $FeCl_3$ nachzuweisen. Mit 100 g Oberhefe wurde die Gärung weitergeführt. Nach 4 Tagen war Acetoin noch deutlich erkennbar. Es wurden 500 g Wasser sowie 50 g Hefe hinzugetan. Nach 5 Tagen war die Probe auf Acetoin schwach geworden; das Gärgut reduzierte alkalische Kupferlösung jedoch auch in der Wärme nicht mehr; dabei ist zu bedenken, daß die Dimethyl-glyoxim-Reaktion schärfer als die *Fehling*sche Probe ist und noch die letzten Spuren[1]) Acetoin anzeigt.

Aufarbeitung.

2460 ccm Gärgut wurden zentrifugiert und lieferten 2200 ccm klare Flüssigkeit, die im *Faust-Heim*schen Apparat zum Sirup eingeengt wurden. Dieser wurde mehrmals mit Alkohol durchgeknetet, der alkoholische Auszug im Vakuum eingedickt, der Rückstand mit viel Alkohol aufgenommen, die Lösung filtriert und wieder verdampft. Der Rückstand wurde jetzt mit 200 ccm Alkohol ausgekocht, filtriert und der Alkohol im Vakuum vertrieben; dann wurde noch zweimal mit Alkohol behandelt, bis der Rückstand sich in absolutem Alkohol klar auflöste. Zu der Lösung in 150 ccm Alkohol wurden 500 ccm Äther hinzugefügt; darauf wurde filtriert und im Vakuum konzentriert. Der Rückstand löste sich in 50 ccm Alkohol und 50 ccm Äther zu einer klaren Flüssigkeit, die dann über Natriumsulfat getrocknet wurde. Nunmehr wurden Alkohol und Äther abgedampft. Im Vakuum gingen bei 13 mm Druck und 87 bis 89° 4,0 g einer farblosen dickflüssigen Substanz über. Drehung $-2{,}6^0$ im 2-dm-Rohr.

Ansatz 2 und 3.

500 g Rohrzucker wurden in 5 Liter Leitungswasser in einem Ansatz mit 250 g Unterhefe *Patzenhofer*, in einem anderen Ansatz mit 250 g Oberhefe *Sinner* in Gärung versetzt. Dann wurden 29,5 g bzw. 32,5 g reines Diacetyl dazugegeben. Das Diacetyl war nach 2 Tagen verschwunden, nach 6 Tagen war Acetoin noch nachweisbar; trotzdem wurde aufgearbeitet. Beide Ansätze wurden filtriert und der eine auf dem Wasserbade, der andere im *Faust-Heim*schen Verdunstungskasten eingeengt. Die Aufarbeitung geschah wie zuvor. Im ersten Falle wurden 5,5 g, im zweiten 7,5 g Substanz vom selben Siedepunkt gefunden. Die Drehung war $-3{,}2^0$ bzw. $-2{,}8^0$ im 2-dm-Rohr.

[1]) Nach *Lemoigne* noch 1 Teil in 1 Million Teilen Flüssigkeit.

Ansatz 4.

500 g Rohrzucker wurden in 2 Liter Wasser mit 250 g Oberhefe *Sinner* zum Gären gebracht; dann wurden 41,0 g frisches Diacetyl hinzugefügt. Nach 4½ Stunden war in einer Probe Diacetyl noch reichlich vorhanden, aber in derselben Probe (s. S. 318) Acetoin schon deutlich nachweisbar, während Butylenglykol zunächst fehlte. Nach 22 Stunden war Diacetyl nur noch spurenweis zugegen, Acetoin war kräftig und Butylenglykol schwach zu erkennen. Es wurde mit 100 g Oberhefe weiter vergoren. Nach 2 Tagen war alles Diacetyl verbraucht, Acetoin erheblich und Butylenglykol reichlich gebildet. Nach 6 Tagen war Acetoin noch vorhanden, auch nach 10 Tagen war noch immer Acetoin neben Butylenglykol zugegen. Der Ansatz wurde mit Wasser verdünnt und mit 200 g frischer Oberhefe weiter vergoren. Nach 13 Tagen war die Gärung beendet und Acetoin immer noch in Spuren nachweisbar. Dann wurde aufgearbeitet. Prozentuale Ausbeute wie zuvor; Drehung im 2-dm-Rohr $-3{,}1^0$.

Ausbeuten.

14,7 g	Diacetyl	lieferten	4,0 g	2,3-Butylenglykol
29,5 g	„	„	5,5 g	„
32,5 g	„	„	7,5 g	„
41,0 g	„	„	9,0 g	„

Das hier benutzte Verfahren der Alkohol-Äther-Extraktion ist in bezug auf die Ausbeute an β,γ-Dioxybutan nicht vorteilhafter als die früher von *Neuberg* und *Nord* ausgeführte Isolierung des Glykols mittels Wasserdampfdestillation.

Über die Fällbarkeit der Diaminosäuren durch Mercuriacetat und Soda.

Von

Günter Nagelschmidt.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 28. Februar 1927.)

Das Bedürfnis, ein *universelles Fällungsmittel für die Klasse der Aminosäuren und Aminosäurenverbände* ausfindig zu machen, hat *Neuberg* und *Kerb*[1]) zur Ausarbeitung eines Verfahrens veranlaßt, das darin besteht, daß Mercuriacetat plus Alkalicarbonat, gegebenenfalls unter Zusatz von Alkohol, die erwähnten niedrigen Eiweißabbauprodukte praktisch vollkommen niederschlagen. Für analytische Operationen an Substanzgemischen physiologischer Herkunft ist der Besitz einer solchen Methode nicht minder wichtig als die Existenz eines Verfahrens zur Entfernung von Kohlenhydraten, wie es in der Bleiessig-Ammoniak-Fällung oder Kupfer-Alkali-Fällung nach *Salkowski-van Slyke-Clausen* vorliegt.

Zum Beispiel ist es für Milchsäurebestimmungen von Bedeutung, gleich den Proteinen auch die Aminosäuren und Peptide entfernen zu können, da diese bei der üblichen Oxydations-Titrations-Methode Stoffe liefern, welche unter Umständen die Resultate entstellen. Nun haben *Neuberg* und *Ishida*[2]) in der kombinierten Fällung von Aminosäuren und deren Gemischen durch Phosphorwolframsäure sowie Quecksilberacetat plus Soda einen zweiten Weg angegeben, auf dem praktisch die gänzliche Beseitigung der stickstoffhaltigen Substanzen erreicht wird. Jedoch ist die Anwendung verschiedener Reagenzien zu diesem Zwecke nicht immer bequem. Mit Phosphorwolframsäure für sich allein kommt man nicht zum Ziele, da dieses Mittel wohl die Diaminosäuren vollständig niederschlägt, aber von den Mono-aminosäuren nur einzelne, und auch diese nicht quantitativ, erfaßt.

---

[1]) *C. Neuberg* und *J. Kerb*, diese Zeitschr. **40**, 498, 1912; **67**, 119, 1913.
[2]) *C. Neuberg* und *M. Ishida*, ebendaselbst **37**, 142, 1911.

Deshalb habe ich umgekehrt geprüft, ob auch die natürlichen *Diaminosäuren* quantitativ schon durch das von *Neuberg* und *Kerb* angegebene Fällungsmittel aus wässerigen Lösungen entfernt werden können. Die Autoren hatten bereits gezeigt, daß außer den gewöhnlichen α-Aminomono- und di-carbonsäuren verschiedene Peptide, wie Leucyl-leucin, Glycyl-glycin, Glycyl-tryptophan, Glycyl-tyrosin, Seidenfibroin-pepton nebst Witte-pepton, ferner Amide (wie Asparagin, Glutamin, Harnstoff), Aminoaldehyde und selbst Ammoniak quantitativ gefällt werden, und sie haben auch weiterhin dargetan, daß α, β-Diamino-propionsäure sowie Histidin mit dem Quecksilber-Soda-Reagens aus der Lösung beseitigt werden können. Ich habe nun *d-Arginin* und *d-Lysin* in den Kreis der Untersuchungen gezogen und die Versuche mit *l-Histidin* wiederholt. Dabei hat sich ergeben, daß diese drei zur Gruppe der Hexonbasen gehörigen Substanzen[1]) sich nicht anders verhalten als die früher geprüften. Auch hier stellte sich heraus, daß der Zusatz von Alkohol die Ausfällung vervollständigt, indem vom Gesamtstickstoff des Histidins nur 0,6%, von dem des Arginins 1,2% und von dem des Lysins lediglich 0,8% der Fällung entging.

Im einzelnen sind Versuche wie die folgenden ausgeführt:

I.

Ungefähr 1 g *d-Arginin-carbonat* wurden in 10,0 ccm gelöst. Der Stickstoff wurde im Arginin nach *Kjeldahl* (mit der Modifikation von *Gunning-Arnold*) ermittelt. Auch alle übrigen Stickstoff-bestimmungen wurden nach dieser Methode vorgenommen.

3,0 ccm von dieser Lösung, die 94,1 mg N enthielten, wurden mit 4,5 ccm 25% Mercuriacetat-lösung sowie 12,0 ccm gesättigter Natriumcarbonat-lösung gefällt[2]). Es entstand ein dicker weißer Niederschlag, der am nächsten Tage abfiltriert wurde. Filtrat und Waschwässer (Alkohol von 70%) wurden mit Schwefelsäure eingedampft und der darin enthaltene Stickstoff dann nach *Kjeldahl* ermittelt; NH_3-Destillation unter Zugabe von Natriumthiosulfat[3]).

Der Quecksilberniederschlag wurde in Wasser fein verteilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt; dann wurde filtriert, ausgewaschen, eingeengt und ein Volumen von 100,0 ccm hergestellt. Mit je 10,0 ccm der Flüssigkeit wurden Stickstoffbestimmungen[4]) gemacht.

Es fanden sich im Gesamtfiltrat 8,0 mg Stickstoff, das sind 8,5%, im Gesamtniederschlag 82 mg Stickstoff, das sind 87,1% des

[1]) Konfigurationsbezeichnung nach *P. Karrer, K. Escher* und *R. Widmer*, Helv. **9**, 306, 1926; vgl. auch *K. Freudenberg* u. *F. Rhino*, **57**, 1547, 1924.
[2]) Auch im folgenden hatte das Fällungsreagens stets diese Konzentration.
[3]) *C. Neuberg*, Beiträge z. chem. Physiol. u. Patholog. **2**, 214, 1902.
[4]) Die angeführten Zahlen sind stets Mittelwerte zweier Analysen.

Ausgangsmaterials, dessen Menge in dem Ansatz 94,1 mg Stickstoff entsprach.

Der Rest des aus dem Quecksilberniederschlag wiedergewonnenen Arginins wurde als *Nitrat* isoliert. Dieses zeigte die Drehung

$$[\alpha]_D = +10{,}07^0$$
$$(\alpha = +1{,}37^0,\ l = 2,\ c = 6{,}800),$$

während *Bergmann* und *Zervas*[1]) jüngst $[\alpha]_D = +10{,}14^0$ festgestellt haben.

3,0 ccm derselben Arginin-lösung wurden mit 5 ccm der Quecksilberacetatlösung versetzt. Die Flüssigkeit blieb klar. Der erste Tropfen Sodalösung erzeugte eine flockige weiße Fällung; 13 ccm Sodalösung wurden im ganzen hinzugefügt. Dickes weißes Magma. Eine weitere Zugabe von Quecksilberacetatlösung rief Braun-gelb-färbung hervor. Die alternierende Anwendung der Reagenzien hat stets bis zu diesem Punkte zu erfolgen. Hier wie bei allen anderen Ansätzen war eine leichte Kohlendioxydentwicklung bemerkbar. Die Mischung wurde sodann mit Alkohol auf 100,0 ccm aufgefüllt. Am nächsten Tage wurde zentrifugiert und mit 70%igem Weingeist ausgewaschen. Der gesamte Niederschlag wurde aus dem Zentrifugenglas in einen Kjeldahlkolben übergeführt und verbrannt.

Das klare Zentrifugat wurde mit Schwefelsäure angesäuert, eingeengt und ebenfalls kjeldahlisiert.

Im Niederschlag waren 93,2 mg Stickstoff, das sind 99,0%, im Filtrat 1,1 mg, das sind 1,2% des Gesamtstickstoffs vorhanden.

II.

1,847 g *d-Lysin-di-chlorhydrat* wurden in 20,0 ccm Wasser aufgelöst. Von diesem Lysinpräparat waren Drehung, Stickstoff- und Chlor-gehalt festgestellt.

Gef.: Cl = 31,99%, N = 12,63%.
Ber.: Cl = 32,42%, N = 12,79%.

$$[\alpha]_D = +16{,}1^0$$
$$(\alpha = +2{,}97^0,\ l = 2,\ c = 9{,}236);$$

nach *Bergmann* und *Zervas* (l. c.) beträgt die spezifische Drehung $= +16{,}4^0$.

a) 3,0 ccm obiger Lösung, die im ganzen 233,3 mg N enthielt, gaben mit 2 ccm der Mercuriacetatlösung eine weiße, flockige Fällung, die sich in weiteren 2 ccm essigsauren Quecksilbers wieder löste. Der erste Tropfen Soda lieferte jetzt eine bleibende dicke weiße Fällung. Es wurden 4 ccm Quecksilberacetat- und 12 ccm Sodalösung

[1]) *M. Bergmann* und *L. Zervas*, H. 152, 282, 1926.

verbraucht. Im Filtrat sowie im Niederschlag wurde der Stickstoff bestimmt.

b) Weiter wurde ein zweiter gleicher Ansatz mit Alkohol auf 100,0 ccm aufgefüllt und wie oben verarbeitet.

In der verwendeten Substanzmenge waren 35,0 mg Stickstoff.

Im Niederschlag des Ansatzes a) waren 32,8 mg N, das sind 93,7 %, in seinem Filtrat 1,4 mg N, das sind 4,0 %, zugegen.

Beim Ansatz b) (mit Alkohol) fanden sich 34,9 mg N im Niederschlag, das sind 99,7 %, und 0,2 mg N im Filtrat, das sind 0,6 %.

III.

Von *l-Histidin-chlorhydrat* wurde eine genau 10 % Lösung bereitet. Stickstoff- und Chlorbestimmungen ergaben einen Gehalt von 16,55 % Cl, gegen 16,92 % berechnet, und von 20,3 % N gegen den theoretischen Wert von 20,05 %.

In 3,0 ccm der Flüssigkeit riefen 5 ccm Mercuriacetat eine Fällung hervor, die sich auf Zusatz von 12 ccm Soda stark vermehrte.

Es wurden abermals zwei Ansätze gemacht, a) einer in Wasser und b) einer mit Alkohol. Ursprünglich waren vorhanden 60,9 mg Stickstoff. Im Niederschlag von a) wurden 58,8 mg Stickstoff, das sind 96,6 %, und im Filtrat 0,7 mg, das sind 1,2 %, festgestellt. Im Niederschlag von b) wurden 61,7 mg, das sind 101,3 %, im Filtrat 0,4 mg N, das sind 0,6 % gefunden.

Man ist somit in der Lage, mit dem Mercuriacetat-Soda-Reagens eine praktisch vollkommene Entfernung sämtlicher niedrigen Eiweißbausteine zu bewirken.

Bei dieser Gelegenheit sei darauf hingewiesen, daß die Methode in den letzten Jahren vielfach mit Erfolg[1]) benutzt worden ist, und zwar sowohl zur Entfernung unerwünschter Beimengungen von Eiweißspaltprodukten, als auch zur Isolierung von Aminosäuren. Im allgemeinen wird man sich für den letztgenannten Zweck naturgemäß keines allgemeinen Fällungsmittels bedienen, sondern eines auswählenden Reagenzes. Es ist daher ganz selbstverständlich und geradezu im Wesen der Methode begründet, daß sie z. B. bei der Darstellung von Glutamin aus dem Aminosäurengemisch des Rübensaftes nicht mehr leisten kann als die Verwendung von Quecksilbernitrat. Die gegenteilige Erwartung

[1]) Siehe u. a. *A. G. Hogan*, Journ. biol. Chem. **18**, 490, 1914; *J. Parnas* und *R. Wagner*, diese Zeitschr. **61**, 394, 1914; *H. B. Vickery*, Journ. biol. Chem. **60**, 648, 1924; **68**, 587, 1926; *J. Forschbach* und *H. Schäfer*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **82**, 355, 1918; *E. Bissinger*, *E. J. Lesser* und *K. Zipf*, Klin. Wochenschr. **2**, 2234, 1923; *Vl. Staněk* Zeitschr. f. d. Zuckerindustrie d. Čsl.-Republik **45**, 189, 1921/1922.

von *Thierfelder* und *v. Cramm*[1]) erscheint also unverständlich, um so mehr, als *Neuberg* und *Ishida* (l. c.) ja gerade die gleich gute Fällbarkeit einer großen Reihe von Melasse-Bestandteilen durch das Acetat-Reagens beschrieben hatten[2]). Wo es sich hingegen um die Aufgabe möglichst vollständiger Entfernung von Aminosäuren handelt[3]), gebührt der Mercuriacetat-Methode vor einer Verwendung von Quecksilberoxyd-nitrat der Vorzug. Man kann sich leicht davon überzeugen, daß bei Behandlung mit salpetersaurem Quecksilber viel mehr Aminosäuren-Stickstoff in Lösung bleibt, als bei Heranziehung des essigsauren Salzes.

---

[1]) *H. Thierfelder* und *E. v. Cramm*, H. **105**, 58, 1919.

[2]) Vgl. H. **43**, 350, 1904; **44**, 503, 1905; diese Zeitschr. **24**, 173 und 429, 1910; **26**, 164, 1910.

[3]) Siehe auch *J. Vondrák*. Zeitschr. f. d. Zuckerindustrie d. Čsl.-Republik **51**, 261, 1926.

Ketonaldehydmutase in Weizen- und Roggenkörnern sowie in Sojabohnen.

Von

Ludwig Klar.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 4. März 1927.)

Die große Leichtigkeit, mit der tierische Zellen, Pilze und Bakterien durch Dismutation des Methylglyoxals Milchsäure bilden, war Veranlassung, auch nach dem *Vorkommen* des entsprechenden Ferments, *der Ketonaldehydmutase, in Phanerogamen zu fahnden.* Schon früher haben *C. Neuberg* und *G. Gorr*[1]) in *Erbsen, Puffbohnen* sowie *Lupinen*, sodann *C. Neuberg* und *M. Kobel*[2]) im Tabaksamen das Enzym nachgewiesen. In Fortsetzung dieser Versuche hat *G. Binder-Kotrba*[3]) gezeigt, daß dasselbe nicht nur auf Methylglyoxal, sondern auch auf Phenylglyoxal einwirkt.

Um weitere Anhaltspunkte für die *Verbreitung des Ferments in höheren Pflanzen* zu gewinnen, habe ich drei Arten von Vegetabilien herangezogen, und zwar käufliche *Weizenkörner, Roggenkörner* nebst *Sojabohnen.*

Für die quantitativen Analysen wählte ich als Substrat — der leichteren methodischen Handhabung wegen — das *Phenylglyoxalhydrat* und habe in allen Fällen seine enzymatische Umwandlung in Mandelsäure durch das Ferment der genannten Vegetabilien verzeichnen können; außerdem habe ich mich durch Stichproben mit Weizen und Soja davon überzeugt, daß unter gleichen Bedingungen das *Methylglyoxal* ebenfalls dismutiert wird.

---

[1]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **171**, 475, 1926; **173**, 358, 1926.
[2]) *C. Neuberg* und *M. Kobel*, ebendaselbst **179**, 473, 1926.
[3]) *G. Binder-Kotrba*, ebendaselbst **174**, 443, 1926.

Im allgemeinen wurden die Versuche mit frischem, aus den genannten Samen hergestelltem Mehl vorgenommen. Durch Experimente an Roggen habe ich festgestellt, daß auch hier das wirksame Ferment durch Wasser aus dem Mehl ausgezogen, also von den Strukturelementen getrennt werden kann.

Es entstand, wie nach den bereits vorliegenden Erfahrungen zu erwarten war, in allen Fällen *optisch aktive Mandelsäure*. Diese erwies sich — im Gegensatz zu dem wechselnden Effekt bei den Bakterien, die beide Antipoden liefern können[1]) — bislang stets als lävogyr, sobald sie durch das Ferment der höheren Pflanzen erzeugt war.

Die *Umwandlung* des Phenylglyoxal-hydrats *erfolgt quantitativ*. Bei den beiden Getreidesorten vermochte ich die auftretende d(−)-Mandelsäure bis zu 94% in Substanz zu isolieren, bei Soja gelang die Abscheidung von reiner Substanz nur in einer Ausbeute von 37%, weil bei der bisher befolgten Versuchsanordnung der hohe Fettgehalt Störungen verursachte. Im Falle der Verwendung von Roggen erwies sich die entstandene Mandelsäure auch in optischer Beziehung als nahezu rein, beim Weizen war die Säure rund zu 75% optisch aktiv und enthielt bei Soja nur ein wenig mehr als die Hälfte an der linksdrehenden Komponente.

Die Zeit der Umwandlung einer $1^0/_{00}$igen Lösung von Phenylglyoxal-hydrat belief sich bei Roggen und Weizen auf 2 bis 3 Tage, sie betrug beim Sojabohnenmehl 138 Stunden. Das sind Werte, die sich bei entsprechender Reinigung des Ferments natürlich verbessern lassen.

Die Einzelheiten gehen aus folgenden experimentellen Daten hervor.

Versuchsteil.

A.

Zu einer Lösung von 1,0 g reinem Phenylglyoxal-hydrat in einem Liter Wasser wurden 10 g Calciumcarbonat und 30 g von mir frisch hergestellten und gesiebten *Weizenmehls* gegeben (die Weizenkörner können zunächst in einer einfachen Kaffeemühle zerrieben werden). Nach Sättigung des Gemenges mit Kohlendioxyd wurden 10 ccm Toluol hinzugefügt. Das Gemisch blieb in einer verschlossenen Glasstöpselflasche im Brutschrank bei 37° stehen und wurde vielfach umgeschüttelt. Nach längstens 64 Stunden fiel die p-Nitro-phenyl-osazon-probe auf Phenylglyoxal negativ aus. Alsdann wurde zentrifugiert und ein gemessener Teil des klaren Zentrifugats auf dem Wasserbad eingeengt. Der 150 ccm betragende Abdampfrückstand wurde mit 6 ccm 80%iger Phosphorsäure versetzt, wodurch wesentliche Mengen Eiweiß ausgeflockt wurden.

[1]) *P. Mayer*, diese Zeitschr. **174**, 420, 1926.

Das Filtrat vom präzipitierten Protein wurde mit Äther wiederholt ausgezogen. Die ätherischen Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet, und beim Verdunsten des Äthers kristallisierte die Mandelsäure schon im Kolben aus.

Die Rohausbeute, bezogen auf den ganzen Ansatz, war 0,94 g. Zur Reinigung wurde die Mandelsäure zunächst aus Wasser unter Zugabe von wenig Tierkohle und dann aus siedendem Benzol umkristallisiert.

$$[\alpha]_D = -114{,}9^0$$
$$(\alpha = -2{,}76^0, \quad l = 1, \quad c = 2{,}402).$$

Schmelzpunkt 124°.

B.

1. Ein ganz analoger, in gleichen Mengenverhältnissen mit *Roggenmehl* angestellter Versuch lieferte bei derselben Aufarbeitung, berechnet auf den gesamten Ansatz, 0,71 g oder 71 % an kristallisierter Mandelsäure.

$$[\alpha]_D = -143{,}0^0$$
$$(\alpha = -3{,}29^0, \quad l = 1, \quad c = 2{,}300).$$

Schmelzpunkt 128°.

2. 50 g des *Roggenmehls* wurden in 300 ccm Leitungswasser unter Hinzufügung von 3 ccm Toluol suspendiert und bei häufigem Umschwenken 18 Stunden im Eisschrank belassen. Dann wurde zentrifugiert und außerdem klar filtriert. Erhalten wurden 230 ccm Fermentflüssigkeit. Diese wurden mit einer Lösung von 0,71 g Phenylglyoxalhydrat und 9 g Calciumcarbonat versetzt. Das Gemisch wurde auf ein Volumen von 250 ccm gebracht. Nach Beigabe von 2 ccm Toluol verblieb das Gemenge 3 Tage im Thermostaten bei 37°. Bei analoger Aufarbeitung wurden 0,67 g oder 94 % Mandelsäure vom Schmelzpunkt 129° gewonnen.

$$[\alpha]_D = -144{,}3^0$$
$$(\alpha = -2{,}90^0, \quad l = 1, \quad c = 2{,}009).$$

3. In einem anderen Falle wurde die Fermentlösung durch Extraktion von 50 g *Roggenmehl* mit 300 ccm 1 %iger Di-natriumphosphatlösung bereitet. Die weitere Benutzung geschah wie im Versuch B 2. Nach 3 Tagen wurden 90 % der theoretisch möglichen Menge Mandelsäure isoliert. Sie schmolz bei 128 bis 129° und zeigte

$$[\alpha]_D = -141{,}7^0$$
$$(\alpha = -2{,}27^0, \quad l = 1, \quad c = 1{,}602).$$

C.

25 g Mehl aus gelben *Sojabohnen*, die wir der Güte des Herrn Dr. *L. Berczeller* in Wien verdanken, wurden in der unter A. beschriebenen Weise mit einem Liter $1\,^0/_{00}$iger Phenylglyoxal-hydratlösung unter den erwähnten Bedingungen zusammengebracht. Dauer der Digestion 6 Tage. Aufarbeitung wie zuvor.

Ausbeute an kristallisierter Mandelsäure 37 %. Schmelzpunkt 122°.

$$[\alpha]_D = -77{,}3^0$$

$(\alpha = -1{,}16^0, \quad l = 1, \quad c = 1{,}500)$.

Über die quantitative Dismutation des Methylglyoxals zu Milchsäure durch den Bacillus Delbrücki sowie durch das Bacterium lactis aerogenes nebst Versuchen über das abweichende stereochemische Verhalten des Phenylglyoxals bei dieser Reaktion.

Von

Carl Neuberg und **Ernst Simon.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem.)

Zur Prüfung der Frage, ob auch die bakterielle Bildung der Milchsäure mit Hilfe der Methylglyoxal-theorie erklärt werden kann, haben früher *C. Neuberg* und *G. Gorr*[1]) Versuche mit dem *Bacterium coli* angestellt und gezeigt, daß dieser Erreger den Ketonaldehyd der 3-Kohlenstoffreihe rasch und quantitativ zum Verschwinden bringt. Dabei entsteht in theoretischer Ausbeute d, l-Milchsäure, die als Zinklactat abgeschieden und identifiziert worden ist. Nach den hierfür von *C. Neuberg* und *G. Gorr*[2]) beigebrachten schlüssigen Beweisen ist bei anaerober Gärungsführung das Coli-Bacterium praktisch ein vollkommener Milchsäurebildner, auch wenn Glucose das Ausgangsmaterial ist; *G. Goto*[3]) hat ebenfalls gezeigt, daß bei Luftabschluß aller Zucker, der überhaupt vom Bacterium coli angegriffen wird, zunächst in Milchsäure übergeht. *Neuberg* und *Gorr* haben als Produkt der Zersetzung von Traubenzucker durch dieses Bacterium ein Gemisch von viel inaktivem mit wenig rechtsdrehendem Lactat isoliert, während *Goto* über die optischen Verhältnisse nichts angegeben und auch keine Analysen des Lactats mitgeteilt hat.

Als ersten Vertreter aus der Reihe der Bakterien, die allgemein und ohne Einschränkung zu den echten Milchsäurebildnern gezählt werden, haben *C. Neuberg* und *G. Gorr*[4]) den *Lactobacillus* geprüft. Auch er wandelt mit bedeutender Schnelligkeit vollständig quantitativ das Methylglyoxal in Milchsäure um; dabei entsteht die inaktive Form. Ganz ebenso wie der Lactobacillus verhält sich der *Bacillus propionicus*,

[1]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **162**, 490, 1925.

[2]) *Dieselben*, ebendaselbst **173**, 476, 1926.

[3]) *G. Goto*, Scientific. Rep. f. the Governm. Inst. f. infect. diseases for the Year 1925, Tokio, **4**, 367, 1926.

[4]) *C. Neuberg* und *G. Gorr*, diese Zeitschr. **166**, 482, 1925.

den *A. Rippel*[1]) ebenfalls zu den echten Erregern der Milchsäuregärung rechnet.

Somit bestand kaum ein Zweifel, daß so, wie wir es früher für die tierischen Organe, die Gewebe grüner Pflanzen und ferner für die Hefenpilze längst dargetan hatten, auch die Bakterien sehr weitgehend[2]) zur typischen Dismutation des Methylglyoxals befähigt sind. Es fehlten nur noch Versuche mit einem der bekanntesten und technisch wichtigsten Milchsäurebildner. Es ist dies der *Bacillus Delbrücki*, ein Erreger, der identisch oder sehr nahe verwandt ist mit dem Bacillus acidificans longissimus *Lafar*. Wir haben diese Lücke ausgefüllt und gefunden, daß der *Bacillus Delbrücki in ausgezeichneter Weise sowie in kürzester Zeit imstande* ist, *Methylglyoxal zu dismutieren*.

Arbeitet man auf die von uns zumeist benutzte Art, d. h. digeriert man eine etwa $1^0/_{00}$ige Methylglyoxallösung mit einer Reinkultur des Bacteriums in Gegenwart von Calciumcarbonat zwecks Abstumpfung der sich bildenden Milchsäure, so ist die Umwandlung in spätestens 16 Stunden quantitativ. Man gewinnt dabei die *Racemform der Milchsäure*.

Die industrielle Verwendung des Bacillus Delbrücki im Brennereigewerbe und bei der Bereitung von Preßhefe geschieht, um mit Hilfe dieses Mikroorganismus freie Milchsäure in den Maischen zu erzeugen. Der Erreger besitzt eine verhältnismäßig hohe Unempfindlichkeit gegen sein Stoffwechselprodukt, die freie Milchsäure. Wir haben daher versucht, ohne das die Acidität regulierende Calciumcarbonat, also *auch bei saurer Reaktion*, die Dismutation des Methylglyoxals mit dem Bacillus Delbrücki zu besorgen. Sie gelingt, und die Ausbeute betrug unter unseren Versuchsbedingungen 95 % der theoretischen Möglichkeit. Diese Übereinstimmung im Verhalten des Erregers gegenüber Methylglyoxal und Zucker als Substraten erscheint beachtlich; denn die Entwicklung der freien Milchsäure unter natürlichen Bedingungen erfolgt in Maischen, die reich sind an präformierten Puffern[3]) (Eiweiß, Salzen), während wir, wie aus dem Versuchsteil hervorgeht, in einer pufferfreien Lösung, nämlich in destilliertem Wasser, gearbeitet haben. Somit ist die 95 %ige Umwandlung des Methylglyoxals unter diesen Bedingungen besonders beweiskräftig. Auch für den Fall einer unvollständigen Umwandlung des Methylglyoxals in Milchsäure haben wir eine Methode gefunden, welche eine einwandfreie Trennung des un-

[1]) *A. Rippel*, Vorlesungen über theoretische Mikrobiologie, S. 131. Berlin, Julius Springer, 1927.

[2]) Über das analoge Verhalten der Essigbakterien siehe *G. Gorr* und *G. Perlmann*, diese Zeitschr. **174**, 433, 1926.

[3]) Vgl. *W. Windisch*, *P. Kolbach* und *E. Rathke*, Wochenschr. f. Brauerei **41**, 175, 1924.

veränderten Methylglyoxals von der dismutativ entstandenen Milchsäure ermöglicht (s. S. 335).

Weiterhin haben wir, um den enzymatischen Charakter des Prozesses darzulegen, noch mit *Acetonpräparaten des Bacillus Delbrücki* gearbeitet. Sie führen das Methylglyoxal gleichermaßen vollständig in Milchsäure über, und zwar tritt hierbei ebenfalls *optisch inaktives Lactat* auf.

Wie wir erwartet haben, erstreckt sich die Wirkung des *Bacillus Delbrücki* nicht allein auf das Methylglyoxal, sondern der Erreger *wandelt* gleich den Essigbakterien und dem Lactobacillus[1]) *auch das Phenylglyoxal um*. Dabei entsteht quantitativ *Mandelsäure*; diese ist bemerkenswerterweise zu mehr als vier Fünftel *optisch aktiv*, indem die kristallisierte Säure 82% l(+)-Mandelsäure enthält.

Hinzufügen können wir noch, daß ein anderer Milchsäure produzierender Organismus, das *Bacterium lactis aerogenes*, sich ganz wie alle übrigen genannten Erreger verhält. Auch in Berührung mit ihm geht *Methylglyoxal* in längstens 16 Stunden *quantitativ in racemische Milchsäure* über, während innerhalb zweier Tage aus *Phenylglyoxal* quantitativ Mandelsäure mit einem Überschuß von 10% an d(−)-Komponente entstand. —

Es verdient hervorgehoben zu werden, wie verschieden ein und derselbe Erreger auf zwei so nahestehende Substrate — das Methylglyoxal einerseits und das Phenylglyoxal andererseits — in bezug auf die stereochemischen Verhältnisse bei der Dismutation einwirkt[2]).

Damit sind unsere Untersuchungen über die Entstehung von Milchsäure aus Methylglyoxal unter dem Einfluß von Bakterien zu einem bestimmten Abschluß gebracht. Das Ergebnis ist, daß eine Anzahl von Vertretern aus verschiedenen Reihen der Milchsäure liefernden Bakterein im Methylglyoxal ein adäquates Substrat finden.

Experimentelles.

1. Ansätze mit Bacillus Delbrücki.

a) *α.* Zur Verwendung gelangte — nach Ermittlung an einer kleinen Probe — eine Bakterienmenge entsprechend 9,8 g Trockensubstanz. Diese wurde in 1900 ccm entkeimten Leitungswassers suspendiert und nach Zugabe von 10 g Calciumcarbonat mit 10,0 ccm einer 13,6%igen Methylglyoxallösung versetzt. Das Gemisch wurde sodann auf ein Volumen von 2 Litern aufgefüllt und mit Kohlensäure gesättigt; die

[1]) Vgl. hierzu *Paul Mayer*, diese Zeitschr. **174**, 420, 1926.

[2]) Vgl. hierzu *C. Neuberg* und *E. Simon*, Über die Dismutation des racemischen Valeraldehyds durch verschiedene Essigbakterien. Diese Zeitschr. **174**, 452, 1926; **179**, 443, 1926.

Flasche blieb paraffiniert im Thermostaten bei 37° stehen. Nach 16 Stunden konnte in einer entnommenen Probe kein Methylglyoxal mehr nachgewiesen werden.

Nach dem Zentrifugieren wurde in einem Anteil von 100 ccm eine Milchsäurebestimmung nach dem Oxydations-Titrations-Verfahren vorgenommen. In 100 ccm wurden 0,0819 g Milchsäure ermittelt, so daß sich für den Gesamtansatz 1,638 g Milchsäure ergaben. Auf Grund der Anfangsbestimmung des Ketonaldehyds waren 1,70 g Milchsäure zu erwarten.

Das Zentrifugat wurde mit Calciumcarbonat bis auf ein kleines Volumen eingeengt und mit dem doppelten Volumen absoluten Alkohols heiß versetzt; dann wurde schnell filtriert und mehrmals mit warmem 75%igen Alkohol nachgewaschen. Nach dem Abdunsten des Weingeistes und der Entfernung von Verunreinigungen durch Filtration kristallisierte das *Calciumlactat* direkt aus. Das Salz wurde in heißem Wasser gelöst und das Calcium durch Zugabe von etwas überschüssiger Oxalsäure entfernt. Die filtrierte Flüssigkeit wurde mehrere Stunden mit alkalifreiem Zinkoxyd gekocht und darauf filtriert. Nach dem Einengen schied sich das Zinklactat aus; die Rohausbeute daran belief sich auf 2,8 g. Die Substanz wurde mit etwas Eiswasser angerieben, auf Ton gestrichen und alsdann aus heißem Wasser mit wenig Tierkohle umkristallisiert.

Nach erneutem Abpressen auf Ton lieferte die Substanz folgende Analysendaten:

0,1517 g gaben bei 110° 0,0270 g Wasser ab,
0,1247 g entwässerter Substanz lieferten 0,0416 g ZnO.

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 3\,H_2O$: Ber.: $H_2O = 18{,}16\,\%$; $ZnO = 27{,}36\,\%$.
Gef.: $H_2O = 17{,}80\,\%$; $ZnO = 27{,}42\,\%$.

Es liegt somit reines d, l-Zink-lactat vor. Auch die Mutterlauge dieses optisch inaktiven Salzes wies keinerlei Drehungsvermögen auf.

β. Zur Kontrolle wurden 5,0 ccm der 13,6%igen Methylglyoxallösung unter Zugabe von 5 g Calciumcarbonat auf ein Volumen von 1000 ccm gebracht. Unmittelbar bei Beginn des Versuchs und nach seiner Beendigung wurden 200 ccm abfiltriert und auf den Gehalt an Methylglyoxal durch Bestimmung der p-Nitro-phenylosazon-menge analysiert. Die Abnahme durch Selbstzersetzung machte 3,8% aus.

b) u. c) Zwei weitere in gleicher Weise mit destilliertem Wasser (statt Leitungswasser) angesetzte Versuche ergaben dasselbe Resultat.

2. Ansatz mit Bacillus Delbrücki ohne Calciumcarbonat.

Eine Bakterienmenge, deren Trockengewicht 11,8 g betrug, wurde mit 5,0 ccm einer 21,8%igen Methylglyoxallösung und mit destilliertem

Wasser auf ein Volumen von 2000 ccm gebracht. Obgleich nach 3 Tagen eine kleine Menge des Methylglyoxals immer noch unangegriffen war, schritten wir zur Aufarbeitung. Ein aliquoter Teil des zentrifugierten Ansatzes diente zur Ermittlung der Milchsäure nach der Oxydations-Titrations-Methode. In 100 ccm Zentrifugat wurden 0,0675 g Milchsäure gefunden und für den gesamten zentrifugierten Ansatz 1,308 g Milchsäure.

In anderen 100 ccm Zentrifugat wurde außerdem das nicht umgewandelte Methylglyoxal als p-Nitro-phenyl-osazon bestimmt. Gef.: 0,057 g Osazon, woraus sich für den Gesamtansatz 0,0331 g unangegriffenes Methylglyoxal berechnen.

1180 ccm des Zentrifugats wurden mit 3 ccm Phenylhydrazin[1]) versetzt und am folgenden Tage in vacuo eingeengt. Nach Filtration von Methylglyoxal-osazon wurde dreimal so viel Bariumhydroxyd hinzugegeben, als der überhaupt möglichen Menge Milchsäure äquivalent ist. Dann wurde 2 Stunden auf dem Baboblech gekocht, um eventuell entstandenes Milchsäurehydrazid zu zerlegen. Darauf wurde filtriert und mehrmals ausgeäthert. Die mit Kohlensäure behandelte, filtrierte und mit Tierkohle geklärte Flüssigkeit wurde auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und in einem aliquoten Teile der Bariumgehalt ermittelt. Die restierende Lösung wurde mit der berechneten Menge Zinksulfat versetzt und nach dem Abfiltrieren des Bariumsulfats das Zinklactat in üblicher Weise gewonnen. Die Rohausbeute an inaktivem Salz war 1,13 g aus dem verarbeiteten Anteil.

0,1513 g Substanz gaben bei 110° 0,0272 g Wasser ab und lieferten 0,0415 g ZnO.

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 3\,H_2O$: Ber.: $H_2O = 18{,}16\,\%$; $ZnO = 27{,}36\,\%$,
Gef.: $H_2O = 17{,}98\,\%$; $ZnO = 27{,}40\,\%$.

3. Ansatz mit einem Acetonpräparat des Bacillus Delbrücki.

Zur Verwendung gelangten 10,3 g Acetonbakterien[2]), die mit 10 g Calciumcarbonat und mit Wasser sowie 4 ccm einer 20,62 %igen Methylglyoxallösung auf ein Volumen von 2 Litern gebracht wurden. Nach 16 Stunden war aller Ketonaldehyd verschwunden. Die Aufarbeitung erfolgte in gewöhnlicher Weise. Die Milchsäurebestimmung zeigte 0,0513 g Milchsäure in 100 ccm Zentrifugat an.

Für den gesamten zentrifugierten Ansatz berechnen sich 1,004 g Milchsäure, das sind 97 % der Theorie.

Es lag wieder racemisches Zink-lactat vor.

[1]) Statt dessen kann auch das p-Nitrophenylhydrazin in alkoholischer Lösung verwendet werden.

[2]) Darstellung wie für Aceton-Hefe.

4. Ansatz mit Bacillus Delbrücki und Phenylglyoxal.

Zu einer Aufschwemmung von Bacterium Delbrücki, entsprechend 12,0 g Trockensubstanz, wurden 10 g Kreide nebst 1,5 g Phenylglyoxalhydrat, gelöst in 75 ccm Wasser, gefügt und ein Volumen von 1000 ccm hergestellt. Am folgenden Tage war das Phenylglyoxal verbraucht. Das Gemisch wurde zentrifugiert und die Lösung auf dem Wasserbade eingeengt. Mit konzentrierter Kaliumcarbonatlösung wurden alle Calciumionen beseitigt und nun mit Methylsprit die Verunreinigungen ausgefällt. Der Rückstand wurde viermal mit warmem Sprit (75%ig) behandelt. Nach dem Filtrieren und Abdampfen des Alkohols wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen, filtriert, mit Schwefelsäure angesäuert und sechsmal ausgeäthert. Die ätherischen Lösungen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abdampfen des Äthers kristallisierte die Mandelsäure direkt aus, in einer Rohausbeute von 1,5 g. Die entstandene Mandelsäure war dextrogyr. Nach dem Umkristallisieren aus Benzol schmolz sie bei 122°, und die Drehung einer 2,532%igen wässerigen Lösung im 2-dcm-Rohr war $a = +6{,}36^0$, d. h. $[\alpha]_D = +125{,}6^0$.

Es lag also hier eine 81,93%ige l(+)-Mandelsäure vor.

5. Ansatz mit Bacterium lactis aerogenes.

Eine Bakterienmenge, die 16,8 g Trockenmaterial entsprach, wurde zusammen mit 10 g Calciumcarbonat und 20 ccm einer 5,0%igen Methylglyoxallösung sowie destilliertem Wasser digeriert. Gesamtvolumen 1000 ccm. Nach 16 Stunden quantitative Umwandlung des Methylglyoxals in inaktive Milchsäure.

Gef.: 1,245 g Milchsäure im Gesamtansatz; ber.: 1,25 g.

0,1504 g Substanz gaben bei 110° 0,0274 g Wasser ab und lieferten 0,0407 g ZnO.

$(C_3H_5O_3)_2Zn + 3\,H_2O$: Ber.: $H_2O = 18{,}16\%$; $ZnO = 27{,}36\%$
Gef.: $H_2O = 18{,}21\%$; $ZnO = 27{,}06\%$.

6. Ansatz mit Bacterium lactis aerogenes und Phenylglyoxal.

Ein Ansatz mit B. lactis aerogenes und Phenylglyoxal, der analog Versuch 4 angestellt und aufgearbeitet wurde, lieferte quantitativ Mandelsäure, die 10% an lävogyrer Raumform einschloß.

Studien über Pflanzenkolloide.

XVIII. Mitteilung:

Zur Kenntnis der Weizenstärke.

Von

M. Samec.

(Nach Versuchen von *L. Guzelj, J. Kavčič* und *L. Klinc.*)

(Aus dem chemischen Institut der Universität in Laibach.)

(Eingegangen am 30. April 1927.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Spezifität der Stärkearten verschiedener Provenienz findet nicht nur in einer morphologischen Verschiedenheit der Stärkekörner ihren Ausdruck, sondern beherrscht auch das physikochemische und kolloidchemische Verhalten der einzelnen Stärkeformen so ausschlaggebend, daß bei Wahl passender Methoden aus dem Verhalten der Stärkekleister bzw. der Stärkelösungen die die Stärke liefernde Pflanzenart erschlossen werden kann und sogar zwischen Stärkeproben aus ein und derselben Pflanzenart unterschieden werden kann[1]).

Bei einer systematischen Durchprüfung mehrerer Vertreter der Stärkegruppe trat unter anderen besonders die grobe Verschiedenheit des resistenteren Stärkeanteils in den Vordergrund, und es gelang, die bisher untersuchten Amylopektinanteile verschiedener Stärkearten in zwei Gruppen zusammenzufassen, von denen die eine (die Knollenamylopektine mit dem Hauptrepräsentanten, dem Kartoffelamylopektin) eine einfache und innige Beziehung zwischen dem Phosphorgehalt und dem elektrochemischen Verhalten erkennen lassen, während bei der zweiten Gruppe (den Samenamylopektinen mit dem typischen Repräsentanten, dem Weizenamylopektin) zwar auch reichliche Mengen undialysablen Phosphors gefunden wurden, ohne daß die elektrochemischen Eigenschaften derselben hiermit quantitativ in Einklang gebracht werden konnten[2]).

---

[1]) *M. Samec* und *H. Haerdtl*, Kolloid. Beih. **12**, 282, 1919.

[2]) *M. Samec, M. Minaeff* und *N. Ronžin*, ebendaselbst **19**, 203, 1924.

So ist z. B. die Leitfähigkeit der Weizenstärkelösungen fast um eine Zehnerpotenz niedriger, als dem P_2O_5-Gehalt bei Annahme einer einstufigen Ionisation der Amylophosphorsäure entsprechen würde, die Lösungen zeigen auch nach ausgiebigem Waschen der Körner mit HCl und nach energischster Elektrodialyse nur eine minimale H-Ionenaktivität. Hierbei konnte die Annahme, daß der Phosphor etwa in Form von phosphorhaltigen Eiweißkörpern beigemengt wäre, experimentell nicht begründet werden[1]).

So lag es an der Hand, in erster Linie die Metallionen, welche die vermutliche Amylophosphorsäure absättigen, einer Durchprüfung zu unterziehen, dies um so mehr, als einzelne Forscher[2]) nur diesen die Ursache für alle bestehenden Unterschiede zuschreiben.

I. Die Metallionen der Weizenstärke.

Die Analyse der Kartoffel- und der Weizenstärke zeigt tatsächlich gewisse Unterschiede im Gehalt an Mineralsubstanzen. Tabelle I gibt einen Überblick[3]) über die hierbei erhaltenen Resultate. Um bei der Berechnung der Resultate von den Unsicherheiten, welche in der Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts liegen, unabhängig zu sein, führten wir auch die organische Elementaranalyse beider Stärken durch und rechneten die Trockensubstanz aus dem Kohlenstoffgehalt nach der Formel $C_6H_{10}O_5$.

Tabelle I.

Mineralbestandteile der Kartoffelstärke und der Weizenstärke.

	100 g trockener Stärke enthalten			
	bei Kartoffelstärke		bei Weizenstärke	
	g	Äquiv. $\times 10^5$	g	Äquiv. $\times 10^5$
Asche	0,372	—	0,294	—
SiO_2	0,069	229	0,019	63
P_2O_5	0,176	742	0,149	620
SO_3	0,008	20	0,066	160
CaO	0,058	207	0,042	149
MgO	0,001	5	0,026	129
K_2O	0,018	38	0,027	57
Na_2O	0,008	26	0,032	100
Fe_2O_3	Spur	—	Spur	—
Summe der Säureäquivalente	—	991	—	843
Summe der Basenäquivalente	—	276	—	435
Differenz Säure—Basenäquivalente	—	715	—	408
Summe Säure- + Basenäquivalente	—	1267	—	1278

Anmerkung. $SiO_2 = 2$ Äquiv. $P_2O_5 = 6$ Äquiv. $SO_3 = 2$ Äquiv.

[1]) *M. Samec, M. Minaeff* und *N. Ronžin*, l. c.

[2]) *J. J. L. Zwikker*, Rec. trav. bot. neerlandais **18**, 98, 1921.

[3]) Kartoffelstärke *Kahlbaum* entfettet und Weizenstärke reinst Ph. VIII.

Prozentual gemessen, ist der Aschengehalt der Kartoffelstärke größer als der Aschengehalt der Weizenstärke, doch verschwindet diese Differenz, wenn man die Aschenstoffe in Äquivalenten angibt. Der Phosphorgehalt ist bei der vorliegenden Weizenstärke etwas geringer, der Schwefelgehalt höher als bei der Kartoffelstärke. Das Calcium, welchem eine so große Bedeutung für die größere Passivität des Weizenstärkeamylopektins zugeschrieben wurde, ist in unserem Falle gerade in der Kartoffelstärke viel reichlicher vertreten als in der Weizenstärke, wohl aber zeigt letztere eine besondere Anhäufung von Magnesium. Die Mineralsubstanzen der Kartoffelstärke ergeben zusammen einen bedeutend größeren Säureüberschuß als bei der Weizenstärke. Dieser Unterschied wird noch viel größer, wenn man die Phosphorsäure anstatt dreibasisch zweibasisch in Rechnung setzt, was ja der Gruppierung $R-OPO_3H_2$ entspricht. In diesem Falle findet man in der Kartoffelstärke pro 100 g Trockensubstanz einen Säureüberschuß von $513 . 10^{-6}$ Äquivalenten, in der Weizenstärke aber nur $83 . 10^{-6}$ Äquivalente.

Es ist auf den ersten Blick befremdend, daß die Kartoffelstärke diesen Säureüberschuß einer Anreicherung von Kieselsäure verdankt. Vergleicht man jedoch die Äquivalentmenge dieser sauren Komponente ($229 . 10^{-6}$) mit dem Basengehalt, so ergibt sich, daß das Calcium und Magnesium zusammen ($212 . 10^{-6}$ Äquivalente) völlig von der Kieselsäure neutralisiert werden können, so daß die Phosphorsäure ihre Säurewirkung frei betätigen kann.

In der Weizenstärke hingegen werden von den $278 . 10^{-6}$ Äquivalenten der Erdalkalimetalle nur $63 . 10^{-6}$ Äquivalente durch die Kieselsäure abgebunden; da ferner die Summe der Alkalimetalle ($157 . 10^{-6}$ Äquivalente) durch die Schwefelsäure gedeckt ist ($160 . 10^{-6}$ Äquivalente), müssen in der Weizenstärke sehr wohl das Calcium und das Magnesium auch mit einem Teile der Phosphorsäure in Beziehung stehen.

Da sich die Erdalkaliamylophosphate kolloidchemisch wesentlich anders verhalten als die Kaliumsalze und die freie Säure, ergibt die beschriebene Analyse scheinbar tatsächlich einen doppelten Grund für eine Differenz der Kartoffel- und der Weizenstärke: 1. Die Gegenwart freier Säure in der Kartoffelstärke, welche bekanntlich die Bildung feindisperser, kolloider Lösungen begünstigt. 2. Die Absättigung der Phosphor- bzw. Amylophosphorsäure mit Calcium und Magnesium in der Weizenstärke, wodurch lyophobere kolloide Komplexe bedingt werden.

Wie jedoch zum Teil schon anläßlich früherer Versuche beobachtet wurde[1]), läßt sich aus dieser Divergenz das eigenartige Verhalten des Weizenamylopektins und damit der Samenamylopektine nicht verstehen.

[1]) Vgl. *M. Samec, M. Minaeff* und *N. Ronžin*, l. c.

II. Mineralstoffbewegung beim Waschen mit verdünnter HCl.

Der Chemismus der Mineralbestandteile im Stärkekorn wird durch wiederholtes Waschen mit verdünnter HCl wesentlich verändert. Nach übereinstimmenden Beobachtungen verschiedener Autoren gibt Kartoffelstärke hierbei vorwiegend die basischen Elemente ab, so daß die Asche immer reicher an Phosphorsäure wird. Bei einer solchen Serie erhielt *E. Fouard*[1]) nachstehende Werte (Tabelle II).

Tabelle II. Veränderung des Aschengehalts und des Phosphorgehalts beim Waschen der Kartoffelstärke mit verdünnter HCl.

100 g Stärke enthalten	Zahl der Behandlungen mit HCl					
	0	1	2	3	4	5
Asche . . . g	0,331	0,150	0,115	0,150	0,160	0,140
P_2O_5 . . . g	0,151	0,104	0,094	0,091	0,088	0,088
Äq. $P_2O_5 \times 10^5$	637	439	399	383	374	372

Behandelt man in der gleichen Weise Weizenstärke mit verdünnter Säure, so verliert auch sie einen großen Teil der Kationen, doch treten gleichzeitig mit diesen auch Anionen aus dem Stärkekorn aus, so daß sich der Säureüberschuß im mineralischen Anteil des Kornes nicht vergrößert.

Tabelle III. Veränderung der Mineralstoffe beim Waschen der Weizenstärke mit 1% HCl bzw. 1% H_2F_2.

Bestandteil	Native Stärke		Einmal gewasch. mit 1% HCl		Zweimal gew. mit 1% HCl		Einmal gewasch. mit 1% H_2F_2	
	g auf 100 g Trockensubst.	Äquiv. $\times 10^{-5}$ auf 100 g Trockensubst.	g auf 100 g Trockensubst.	Äquiv. $\times 10^{-5}$ auf 100 g Trockensubst.	g auf 100 g Trockensubst.	Äquiv. $\times 10^{-5}$ auf 100 g Trockensubst.	g auf 100 g Trockensubst.	Äquiv. $\times 10^{-5}$ auf 100 g Trockensubst.
Asche	0,294	—	0,054	—	0,035	—	0,036	—
SiO_2	0,019	63	0,009	28	0,008	26	0,000	—
P_2O_5	0,149	620	0,104	440	0,093	392	0,112	470
SO_3	0,066	160	0,007	18	0,007	18	0,008	21
CaO	0,042	149	0,010	37	0,004	14	0,004	12
MgO	0,026	129	0,002	9	0,002	9	0,002	9
K_2O	0,027	57	0,002	5	0,002	5	0,001	3
Na_2O	0,032	100	0,007	22	0,006	18	0,005	14
Summe der Säureäquivalente $\times 10^5$ . .	—	843	—	486	—	436	—	491
Summe der Basenäquivalente $\times 10^5$ . .	—	435	—	73	—	46	—	38
Diff. Säure- — Basenäquivalent $\times 10^5$.	—	408	—	413	—	390	—	453

Anmerkung. $SiO_2 = 2$ Äquiv. $P_2O_5 = 6$ Äquiv. $SO_3 = 2$ Äquiv.

[1]) C. r. **144**, 501, 1907.

Die in der Tabelle III zusammengestellten Resultate wurden wie folgt gewonnen. 100 g Weizenstärke wurden in 360 ccm 1 % Salzsäure suspendiert und 4 Stunden gründlich turbiniert; nach 12stündigem Absitzenlassen wurde die Säure abgegossen, mit derselben Menge Säure ersetzt und dieser Prozeß fünfmal wiederholt. Die Stärke war also insgesamt etwa 80 Stunden mit der Säure in Berührung, hiervon ein Viertel der Zeit in lebhafter Bewegung. Nun wurde 12- bis 15mal mit destilliertem Wasser gewaschen; die Leitfähigkeit des letzten Waschwassers hat sich bei Berührung mit Stärke nicht verändert. Die nun resultierende Suspension wurde 24 Std. unter lebhaftem Rühren elektrodialysiert, wobei die Stärkekörner eine ausgesprochen anodische Wanderungstendenz zeigten. Nach dem Abnutschen wurde der Stärkekuchen mit Alkohol von der Hauptmenge des Wassers befreit und 2 bis 3 Tage zwischen Filtrierpapier ausgebreitet an der Luft trocknen gelassen. Der Wassergehalt betrug 13,51 % (bei 105° getrocknet); mikroskopisch ließ sich eine schwache Aufquellung der Körner beobachten, auch zeigten einzelne Körner radiale Sprünge. Eine solche Reinigungsserie entspricht also etwa der fünfmaligen Säurebehandlung, wie sie für Kartoffelstärke in Tabelle II beschrieben wurde. Um den Grad festzustellen, bis zu welchem eine derartige Reinigungsprozedur fortgeschritten ist, wiederholten wir die eben beschriebenen Vorgänge noch einmal und geben die dabei beobachteten Resultate in der Rubrik: zweite Waschserie an. Wie leicht ersichtlich, bringt die zweite Waschserie nunmehr geringfügige Änderungen der Aschenstoffe mit sich (Abb. 1).

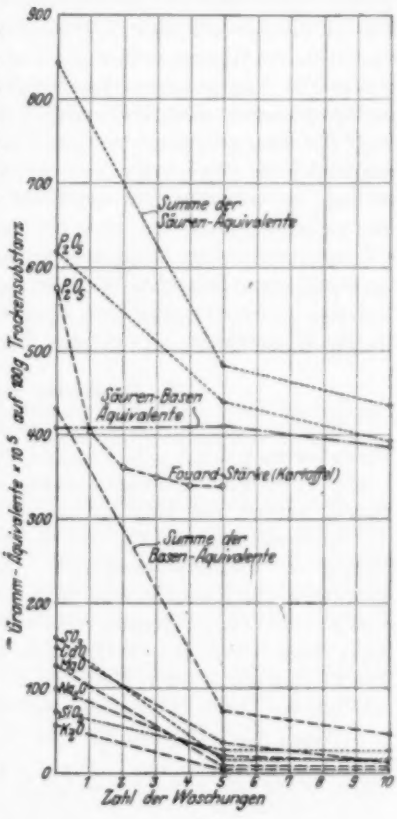


Abb. 1.

Wenn auch der Phosphorgehalt der Weizenstärke bei der hier geübten Säurebehandlung um etwa ein Drittel des Anfangswertes

abnimmt, so ist doch eine ausgesprochene Phosphorretention nachgewiesen, und nach der zweiten Waschserie macht das Phosphorpentoxyd 90 % der im Stärkekorn vorhandenen sauren Mineralbestandteile aus.

Die austretenden sauren und basischen Anteile sind einander nahezu äquivalent. So verloren 100 g unserer Stärkeprobe bei der ersten Waschserie 357 . 10^{-5} Äquivalente saure und 362 basische und bei der zweiten Waschserie 50 saure und 46 basische Anteile. Da im verbleibenden Mineralstoffrest die Kieselsäure und die Schwefelsäure noch mit 44 . 10^{-5} Äquivalenten pro 100 g Substanz vertreten sind, decken sie den gesamten noch vorhandenen Basenrest (46 . 10^{-5} Äquivalente), und die Phosphorsäure erscheint unneutralisiert. Betrachtet man schließlich die Bewegung der einzelnen Ionen bei der Säurebehandlung, so liegt die Annahme auf der Hand, daß durch die Säurewäsche die anorganischen Salze aus dem Stärkekorn entfernt werden, und daß die nicht entfernbare Phosphorsäure a priori nicht an Metalle gebunden im Stärkekorn vorhanden ist. Diese Annahme steht im völligen Einklang mit den seinerzeit gemachten Beobachtungen über die Passivität der in der Weizenstärke anwesenden Phosphorsäure.

III. Entfernung der Kieselsäure.

Es wäre denkbar, daß dieses besondere Verhalten der Weizenstärke-Phosphorsäure durch eine Paarung derselben mit Kieselsäure zustande käme. Von diesem Gesichtspunkte aus behandelten wir eine Portion Stärke anstatt mit HCl mit 1 % Fluorwasserstoffsäure. Die Dauer der Säurewirkung und die weitere Art der Reinigung war sonst ganz analog der Salzsäurebehandlung. Das Resultat ist aus Tabelle III ersichtlich: die Kieselsäure ist völlig aus dem Stärkekorn verschwunden, mit ihr erkleckliche Mengen von Calcium, und zwar sind sich die durch H_2F_2 ausgewaschenen SiO_2- und CaO-Mengen nahezu äquivalent. Die Elution der anderen Kationen ist bis zu demselben Grade gediehen wie bei der gleich energischen Salzsäurewäsche.

Durch das Austreten der Kieselsäure ist jedoch die Phosphorsäure nicht aktiver geworden. Der P_2O_5-Gehalt der Flußsäurestärke ist etwas höher als der der HCl-Stärke, die Leitfähigkeit und H-Ionenaktivität aber bleiben im wesentlichen ungeändert, so daß dieser Befund gegen die Annahme von Silikophosphaten spricht.

IV. Elektrochemisches Verhalten der Weizenstärke nach partieller Elution von Mineralstoffen.

Bei aller Verschiedenheit der Vorbehandlung ergibt demnach die Aschenanalyse für 100 g trockene Weizenstärke einen Säureüberschuß von rund 400 . 10^{-5} Äquivalenten. Nimmt man eine Valenz der Phosphor-

säure als verestert an, bleiben bei der zweimal mit HCl behandelten Weizenstärke in 100 g Trockensubstanz $307 \cdot 10^{-5}$ Äquivalente freier Säure. 1 Liter einer 1 % Lösung dieser Stärke müßte bei Annahme des Leitfähigkeitskoeffizienten = 1 und Vernachlässigung der Leitfähigkeit des Kolloidions eine spezifische Leitfähigkeit $K = 9{,}7 \cdot 10^{-5}$ rez. Ohm, eine H-Ionenaktivität von der Größenordnung 1,5 bis $3 \cdot 10^{-4}$ n und ein der freien Säure entsprechendes Basenneutralisationsvermögen aufweisen. Das Experiment weicht aber von dieser Erwartung sehr stark ab.

Tabelle IV enthält die diesbezüglichen Angaben, welche an Weizenstärkelösungen nach ½stündigem Erhitzen auf 120° in Jenaer Gefäßen gewonnen wurden. Jede Lösung wurde ferner durch 2 Tage und 300 Volt Elektrodenspannung elektrodialysiert und die dabei auftretenden Phasen separat untersucht. Die Resultate sind in derselben Tabelle verzeichnet.

Die Lösung ungewaschener Stärke, in welcher also noch alle durch Säure entfernbaren Salze enthalten sind, zeigt eine Leitfähigkeit von $42 \cdot 10^{-6}$, alle anderen Lösungen, namentlich aber die daraus elektrodialytisch erhaltenen Lösungsanteile, bleiben noch viel mehr hinter dem erwarteten Werte zurück.

Diese Diskrepanz zwischen Rechnung und Experiment ist bei der elektrometrisch ermittelten H-Ionenaktivität noch größer, es handelt sich da um Differenzen von nahezu zwei Zehnerpotenzen[1]).

Einzig und allein das Basenneutralisationsvermögen der elektrodialytisch erhaltenen Gelfraktionen kommt dem aus dem P-Gehalt berechneten Säuregrad näher. So neutralisiert 1 Liter einer 1 % Lösung der Amylopektinfraktion, welche aus ungewaschener Stärke dargestellt wurde, $10{,}2 \cdot 10^{-5}$ Äquivalente Soda, also mit jedem Grammatom P etwa $^2/_3$ Äquivalente Soda. Etwa das gleiche Verhältnis finden wir auch bei der Salzsäurestärke; bei der Flußsäurestärke aber neutralisiert das Grammatom P 1,37 Äquivalente Soda, trotzdem die H-Ionenaktivität auch bei diesem Präparat eine sehr niedrige ist[2]).

[1]) Die hier ermittelten Werte der H-Ionenaktivität sind etwas höher als seinerzeit von *M. Samec, M. Minaeff* und *N. Ronžin* beobachtet wurde. Der Grund liegt einerseits in der Verschiedenheit des Stärkematerials (die jetzt untersuchte Stärke ist wesentlich P-reicher), andererseits in der Dauer der Elektrodialyse. Wir begnügten uns mit einer etwa 72stündigen Stromwirkung, die genannten Autoren dekantierten das Amylopektinkoagulum wiederholt mit H_2O, was ½ bis 2 Wochen in Anspruch genommen hat.

[2]) Die Titration wurde elektrometrisch mit Soda ausgeführt. Das Kartoffelamylopektin neutralisiert mit jedem Grammatom P 1,6 Äquivalente Soda.

Tabelle IV.

Mineralstoffgehalt und elektrochemisches Verhalten verschieden vorbehandelter Weizenstärke.

	Native Stärke			Einmal behandelt mit 1% HCl			Zweimal behandelt mit 1% HCl			Mit H_2F_2 gewaschene Stärke	
	Lösung	Sol	Gel	Lösung	Sol	Gel	Lösung	Sol	Gel	Sol	Gel
Aussehen	weißlich, undurchsichtig	teilweise durchsichtig, opaleszent	klumpig, geht an die Anode	weißlich, undurchsichtig	teilweise durchsichtig	undurchsichtig	weißlich, undurchsichtig	klar opaleszent	wenig klumpig, weißlich	weißlich, durchsichtig	weißlich, undurchsichtig.
Konzentration	2%	0,59%	ca. 5%	2%	0,86%	—	2%	1,03%	—	1,22%	—
g P_2O_5 auf 100 g Trockensubstanz	0,149	0,004	0,115	0,104	0,016	0,127	0,093	0,016	0,120	0,006	0,124
g SO_3 auf 100 g Trockensubstanz	0,066	—	0,019	0,007	—	0,008	—	—	—	—	—
g SiO_2 auf 100 g Trockensubstanz	0,019	—	0,009	0,009	—	0,012	—	—	—	—	—
g-Atom P auf 1 Liter 1% Lösung	—	$0{,}6 \cdot 10^{-5}$	$16{,}1 \cdot 10^{-5}$	—	$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	$17{,}8 \cdot 10^{-5}$	—	$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	$16{,}8 \cdot 10^{-5}$	$0{,}8 \cdot 10^{-5}$	$17{,}5 \cdot 10^{-5}$
Summe d. Säureäq. 1 Liter 1% Lös.	$63{,}6 \cdot 10^{-5}$	—	$39{,}8 \cdot 10^{-5}$	$33{,}9 \cdot 10^{-5}$	—	$41{,}5 \cdot 10^{-5}$	—	—	—	—	—
H-Ionenkonzentrat. 1 Liter 1% Lös.	$0{,}24 \cdot 10^{-6}$	$0{,}31 \cdot 10^{-6}$	$2{,}76 \cdot 10^{-6}$	$0{,}74 \cdot 10^{-6}$	$0{,}72 \cdot 10^{-6}$	$4{,}1 \cdot 10^{-6}$	—	$0{,}29 \cdot 10^{-6}$	$2{,}21 \cdot 10^{-6}$	$0{,}81 \cdot 10^{-6}$	$2{,}25 \cdot 10^{-6}$
1 Liter 1% Lösung verbrauchte Na_2CO_3-Äquiv.	—	—	$10{,}2 \cdot 10^{-5}$	—	—	$12{,}8 \cdot 10^{-5}$	—	—	—	—	$23{,}7 \cdot 10^{-5}$
Leitfähigkeit $K \cdot 10^{-6}$ 1%	42,5	6,7	11,2	15,9	3,2	13,4	12,5	8,8	11,8	6,7	8,1

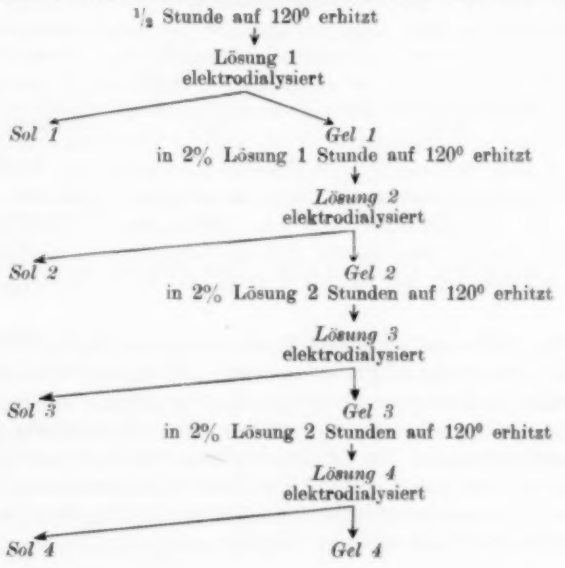
Anmerkung. $SiO_2 = 2$ Äquiv. $P_2O_5 = 4$ Äquiv. $SO_3 = 2$ Äquiv.

Bei der Elektrodialyse erfolgt eine analoge Verschiebung im Mineralstoffgehalt wie bei der Säurebehandlung: eine schwache Abnahme des P_2O_5-Gehalts, starker Abfall der Schwefelsäure und mäßig starker Abfall der Kieselsäure. Da nach den vorstehenden Ausführungen die Passivität der Phosphorsäure in der Weizenstärke a priori gar nicht durch Absättigung mit Kationen gegeben ist, sondern durch einen anderen noch festzustellenden Grund, ist es verständlich, daß die Elektrodialyse ebensowenig wie die Säurebehandlung eine Aktivierung der aziden Natur der Weizenstärkelösungen hervorrufen kann.

So führt die bisherige Überlegung zu der Frage, inwiefern sich die Unterschiede zwischen der Kartoffel und der Weizenstärke durch eventuelle Verschiedenheit der organischen Komponente verstehen lassen.

V. Verhalten der Weizenstärke beim Erhitzen mit Wasser unter Druck.

Die Antwort darauf gibt das fraktionierte Lösen der Stärke. Wir erhitzten hierzu einen 2% Weizen- und Kartoffelstärkekleister auf 120°, unterbrachen in gewissen Intervallen den Kochprozeß, trennten aus der jeweilig erhaltenen Lösung elektrodialytisch die Gelfraktion ab und charakterisierten in üblicher Weise die einzelnen Fraktionen. Der Gang der Fraktionierung war folgender:



Der leitende Gedanke bei diesem und den folgenden Peptisations- und Fraktionierungsversuchen war die Annahme, daß infolge besonders hoher Aggregation bei der Weizenstärke die Stärkesubstanzen vielleicht nicht so leicht in jenen Dispersitätsgrad gebracht werden könnten, wie etwa bei der Kartoffelstärke, und aus diesem Grunde eine so viel geringere elektrochemische Aktivität aufwiesen. Das äußere Bild der einzelnen Fraktionen, welches wir nachstehend wiedergeben, paßt sehr gut zu dieser Annahme.

Fraktion Nr.	Lösung	Sol	Gel
		Weizenstärke.	
1	heiß: etwas durchscheinend, kalt: grauweiß undurchsichtig, suspensoid	ziemlich klar mit bläulicher Opaleszenz	milchigweiße, dicke Suspension
2	heiß: durchscheinend, kalt: undurchsichtige grauweiße dicke Suspension	etwas trüb, bläulich opaleszent	grauweiße, dicke, klumpige Suspension
3	undurchsichtig weißlich	klar, mit starker Opaleszenz	milchig weiß, klumpig
4	undurchsichtig grauweiß	klar mit bläulicher Opaleszenz	weiß, knollig, teilweise flockig
		Kartoffelstärke.	
1	fast klar, etwas opaleszent	völlig klar, nur in sehr dicker Schicht etwas opaleszent	klare, durchsichtige, kompakte Gallerte
2	klar mit schwacher Opaleszenz	klar, ohne Opaleszenz	gelblich, nicht mehr ganz durchsichtig, wie eine sehr fein dispergierte Suspension
3	gelbliche, opaleszente, dünne Suspension	klar, ohne Opaleszenz	2 Schichten. Oben klar, farblos, unten suspensoid, gelblich
4	graugelblich, etwas trüb	klar, ohne Opaleszenz	dicke, schmutziggelbe Suspension

Wir finden bei Weizenstärke durchweg milchige, völlig undurchsichtige Amylopektinfraktionen, welche beim Erhitzen unter Druck allmählich in klare Sole übergehen; die Opaleszenz der letzteren deutet jedoch immer noch auf eine gröbere Substanzverteilung hin als bei den entsprechenden Kartoffelstärkesolen, welche wasserklar und frei von jeder Opaleszenz sind. Ohne Zweifel stehen die in Solform gebrachten Substanzanteile beider Stärkearten einander viel näher als die elektrodialytisch fällbaren Anteile.

Die Geschwindigkeit, mit welcher dieser Übergang erfolgt, läßt sich aus dem Vergleich der in gleichen Zeitabschnitten in die Solform übergegangenen relativen Mengen unschwer abschätzen. Diese beträgt

	Bei Weizenstärke %	Bei Kartoffelstärke %
in der Lösung 1	26	19
„ „ „ 2	35	20
„ „ „ 3	27	27
„ „ „ 4	44	29

oder in Prozenten der Ausgangsmenge

	Nach einer Gesamterhitzungsdauer von Stunden	Bei Weizenstärke %	Bei Kartoffelstärke %
in der Lösung 1 .	$^1/_2$	26	19
„ „ „ 2 .	$1^1/_2$	52	35
„ „ „ 3 .	$3^1/_2$	65	52
„ „ „ 4 .	$5^1/_2$	80	66

Anfangs liefert also die Weizenstärke konzentriertere Sole als die Kartoffelstärke, doch geht die Solbildung bei beiden Stärkearten sonst ziemlich gleich vor sich.

Es muß jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen werden, daß die Elektrodesintegration bei den Weizenstärkelösungen viel schwieriger und weniger scharf erfolgt als bei Kartoffelstärke. Da ja diese Phasentrennung gerade in einer Differenz der elektrischen Leitfähigkeit der koexistierenden Substanzanteile begründet ist und bei der Weizenstärke die Amylopektinfraktion eine relativ sehr niedrige Leitfähigkeit besitzt, wird die Erscheinung weiter nicht wundernehmen. Da ferner die Gelfraktion der Weizenstärke mehr den Charakter einer dicken Suspension als den Charakter einer zusammenhängenden Gallertschicht hat, kann es vorkommen, daß beim Abhebern des Sols vereinzelte Gelteilchen aufgewirbelt werden, eine höhere Solkonzentration und eventuell auch einen geringen P-Gehalt der Solsubstanz vortäuschen.

Tabelle V gibt eine nähere Charakteristik der Kartoffel- und der Weizenstärkesole. Der geringen äußeren Verschiedenheit dieser beiden kolloiden Systeme entspricht auch eine gewisse Gleichförmigkeit der sonstigen Eigenschaften. Eine auffälligere Differenz konnte nur bei der Jodfarbe und bei der mittleren Molatgröße festgestellt werden. Die Kartoffelstärkesole sind durchweg feiner dispers als die korrespondierenden Weizenstärkesole, und sie führen nach kürzerer Erhitzungsdauer und in reichlicherer Menge die mit Jod sich rötende [bekanntlich

Tabelle V. Vergleich der Weizen- und Kartoffelstärkesole.

Sollösungen	t/t_1		α^0		Jodfarbe		Mittlere Molatgröße		Dialysabler Anteil		H-Ionen	
	Weizen	Kartoffel	Weizen	Kartoffel	Weizen	Kartoffel	Weizen	Kartoffel	Weizen	Kartoffel	Weizen	Kartoffel
Sol I ($^1/_2$ Std.)	1,16	2,26	196	197	blau	blau	156 000	91 500	4,19	3,09	$5{,}14 \cdot 10^{-7}$	$5{,}3 \cdot 10^{-6}$
Sol II (1 Std.)	1,44	1,30	197	188	"	"	185 000	120 000	2,2	2,9	$1{,}82 \cdot 10^{-7}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$
Sol III (2 Std.)	1,44	1,18	195,5	192	violettblau	violett	180 000	130 000	2,76	6,9	$8{,}7 \cdot 10^{-6}$	—
Sol IV (1 Std.)	1,48	1,18	191	190	blau violettblau	blau braunviolett	140 000	141 000	1,74	6,8	—	$1{,}27 \cdot 10^{-4}$

Tabelle VI. Veränderung der Weizenstärkelösungen beim Erhitzen unter Druck bei 120° C.

Dauer des Erhitzens Std.		Aussehen	t/t_1	Leitfähigkeit in 1% Lösung 10^5 K	H-Ionen in 1% Lösung 10^{-6}	Mittlere Molatgröße	Jodfarbe**)	Relative Menge von Sol und Gel	P_2O_5 %	g-Atome P in 1 Liter 1% Lösung	SiO_2 %
$^1/_2$	Lösung	weiß, undurchsichtig	2,23	4,27	—	157 000*)	—	—	0,087	$1{,}22 \cdot 10^{-4}$	0,082
	Sol	fast klar	2,67	0,58	0,5	156 000	blau	25	Spuren	—	—
	Gel	dick grauweiß	3,13	1,20	2,4	—	" violett	75	0,119	$1{,}67 \cdot 10^{-4}$	—
3	Lösung	weiß, undurchsichtig	1,97	5,50	—	—	—	—	0,078	$1{,}10 \cdot 10^{-4}$	0,080
	Sol	klar, mit etwas Opaleszenz	1,82	0,40	3,8	—	blau blauviolett	51	Spuren	—	—
	Gel	—	3,06	1,41	2,6	—	" violett	49	0,139	$1{,}96 \cdot 10^{-4}$	—
5	Lösung	weiß, undurchsichtig	1,86	5,90	—	136 000*)	—	—	0,048	$6{,}75 \cdot 10^{-4}$	0,084
	Sol	fast klar	1,68	0,41	3,8—5,4	130 000	blau blauviolett	65	Spuren	—	—
	Gel	oben weißflockig, unten gelbweiß, dick	2,55	2,11	2,9	—	" violett	45	0,091	$1{,}28 \cdot 10^{-4}$	—
9	Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sol	klar, kaum opak	1,65	0,65	2,2	45 770	blau	80	—	—	—
	Gel	weiß, flockig	2,47	2,00	5,0	—	blauviolett violett	20	—	—	—

*) Quecksilberwert. — **) Die erste Angabe bezieht sich auf die Jodfarbe bei wenig Jod, die zweite bei Jodüberschuß.

sehr lösungsstabile[1])] Stärkekomponente. Diese beiden Tatsachen lassen die größere Opaleszenz und die stärkere Tendenz der Weizenstärkesole zur Koagulation ohne weiteres verstehen.

Die Gelfraktionen dieser beiden Stärkearten kommen sich hingegen durch Druckkochen nicht wesentlich näher. Es bleiben daher die auffälligen Unterschiede der Lösungen beim Erhitzen unter Druck durch viele Stunden erhalten und weichen erst in jenem Zeitpunkt, wo die Gelfraktionen so gut wie ganz in die Solform übergegangen sind. Eine Charakteristik verschieden lange gekochter Weizenstärkelösungen geben die Zahlenwerte der Tabelle VI.

Die wesentlichste Veränderung, welche die Stärkesubstanzen bei neutraler Reaktion während des Druckkochens erleiden, ist nach den bei Kartoffelstärke gemachten Erfahrungen die Abspaltung von Phosphorsäure unter Freisetzen des Polysaccharids.

Die Weizenstärke verändert hierbei, wie schon erwähnt, ihr Aussehen nicht wesentlich. Ihre elektrische Leitfähigkeit steigt mit steigender Kochdauer zwar an, allerdings prozentual viel weniger als in Lösungen gleich behandelter Kartoffelstärke. Die innere Reibung sinkt während des Kochens, sie nimmt aber auch während der Messung ziemlich stark ab und erreicht im Thermostaten erst nach mehreren Stunden einen konstanten, dann leicht reproduzierbaren Wert.

Im Gegensatz zur Kartoffelstärke ergibt die Weizenstärkelösung keinen konstanten osmotischen Druck. Die Lösung steigt im Osmometer anfangs an, sinkt aber alsbald wieder. Der Osmometerinhalt entmischt sich nach einigen Tagen, so daß in der trüben Flüssigkeit ein der sauren Milch ähnliches Gerinnsel schwimmt. Das nach dem Abzentrifugieren übrigbleibende Sol entspricht in seiner Konzentration der Konzentration des elektrodialytisch abgetrennten Sols, so daß die Annahme gerechtfertigt ist, daß nur dieser Substanzteil am osmotischen Druck beteiligt ist. Faktisch ergaben Druckmessungen an Weizenamylopektinen Molatwerte von über 300000, welche wir wegen der Unsicherheit nicht mehr in die Tabellen aufgenommen haben.

Der Gehalt an nicht dialysablem Phosphor sinkt mit zunehmender Kochdauer sehr ähnlich wie bei der Kartoffelstärke, das Silicium aber bleibt unverändert, und beträgt der SiO_2-Gehalt durch die ganze Kochdauer hindurch etwa 0,08 %.

In keiner Phase dieser Versuchsserien konnte jedoch das Weizengel in die bei der Kartoffelstärke beobachtete hochhydratisierte geleeartige Form gebracht werden. Sobald die Substanz der Weizenstärke in „Lösung geht", liefert sie das bereits beschriebene opaleszente, wenig lösungsstabile „Amyloamylosen"-Sol.

[1]) Vgl. *M. Samec* und *A. Mayer*, Kolloid.-Beih. **13**, 272, 1921; C. r. **172**, 1079, 1921.

Tabelle VII.

Veränderung der Weizenstärke bei Erhitzen unter Druck auf 138° C.

Dauer des Erhitzens	½ Stunde			1 Stunde			2 Stunden	
	Lösung	Gel	Sol	Lösung	Gel	Sol	Gel	Sol
Aussehen	weißlich, undurchsichtig	weißlich, undurchsichtig	trüb, schwach durchsichtig	weißlich, undurchsichtig	undurchsichtig, wenig viskos	trüb, teilweise durchsichtig	trüb, undurchsichtig	trüb, verschwomm. Trennungsebene v. Gel
Konzentration %	2	—	0,79	2	—	1,23	—	1,61
Relative Menge %	—	60,5	39,5	—	37,5	62,5	19,5	80,5
g P_2O_5 auf 100 g Trockensubstanz	0,149	0,114	0,012	—	0,130	0,016	0,176	0,029
g SO_3 „ 100 g „	0,066	0,040	0,097	—	0,024	—	0,074	0,023
g SiO_2 „ 100 g „	0,019	0,007	0,028	—	0,019	—	0,013	0,010
g-Atom P auf 1 Liter 1% Lösung	$20{,}9 \cdot 10^{-5}$	$16{,}0 \cdot 10^{-5}$	$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	—	$18{,}3 \cdot 10^{-5}$	$2{,}2 \cdot 10^{-5}$	$24{,}7 \cdot 10^{-5}$	$4{,}0 \cdot 10^{-5}$
H-Ionenkonz. $K \cdot 10^6$ auf 1 Liter 1% Lsg.	2,55	5,4	0,66	0,39	2,74	—	2,25	0,83
Leitfähigkeit $\lambda \cdot 10^6$	65,4	27,9	4,6	53,2	15,9	8,1	15,1	5,5

Tabelle VIII.

Veränderung der Weizenstärkelösungen durch Erhitzen unter Druck bei 155° C.

Dauer des Kochens		Aussehen	Relative Menge von Sol u. Gel %	Leitfähigkeit K	Mittlere Molatgröße zentrifugiert	Ultrafiltrabler Anteil %
½ Std.	Lösung	blauweiß, trüb	—	—	37 363	18,16
	Sol	fast klar, schaumig gelb	77,18	$3{,}56 \cdot 10^{-6}$	—	—
	Gel	weiß	22,82		—	—
1 Std.	Lösung	gelbgrün, trüb schaumig, mit weißem Niederschlag	—	—	26 650	26,8
	Sol	fast klar	89,34	$1{,}83 \cdot 10^{-5}$	—	—
	Gel	weiß, flockig	10,76		—	—
3 Std.	Lösung	heiß: opaleszent, kalt: trüb, gelbgrün opal.	—	—	19 237	38,86
	Sol	ganz klar, schaumig	94,87	$4 \cdot 10^{-6}$	—	—
	Gel	voluminös	5,13		—	—

Wir stellten seinerzeit die Frage zur Diskussion, ob nicht die Abweichung der Weizenstärke (und mit ihr der Samenstärken überhaupt) in der Existenz eines Phosphorsäure-di-esters begründet wäre. Die bei einer solchen Gruppierung vorhandene Teilchenanhäufung würde die geringe Löslichkeit verständlich erscheinen lassen. Bei der Verseifung eines solchen Esters könnte entweder der Monoester auftreten, wodurch Verhältnisse geschaffen würden, wie wir sie bei der Kartoffelstärke finden, oder es würden beide Säurebindungen gelöst werden, was direkt eine Halbierung der Molate unter Bildung phosphorsäurefreier Kolloidteilchen zur Folge hätte. Die Beobachtungen des Verhaltens der Weizenstärkelösungen beim Erhitzen unter Druck bei 120° brachten für einen solchen Gedanken keine Stütze, wenn auch sie mit einer simultanen Verseifung eines eventuell vorhandenen Di-Esters nicht in Widerspruch stehen.

Eine Steigerung der Temperatur auf 135 bzw. 155° bedingt kein prinzipiell anderes Verhalten der Weizenstärkelösungen als das Erhitzen bei 120°. Begreiflicherweise ist die in Solform übergegangene Stärkefraktion um so höher, je höher die Temperatur des Kochens war; die mittlere Molatgröße nimmt bei Temperaturerhöhung stark ab, relativ große prozentuale Anteile werden durch Kollodium ultrafiltrabel; die Phosphorabspaltung geht nur langsam vor sich, die jeweiligen Gelfraktionen werden beim Erhitzen auf 135° sogar wesentlich phosphorreicher, und auch in den Solen findet sich reichlich nicht dialysabler Phosphor. Die Zertrümmerung der organischen Komponente führt demnach hier zu Molaten, welche leicht durch Pergament diosmieren.

Trotz dieser notorisch starken Peptisation konnte eine Aktivierung der Wasserstoffionen nicht beobachtet werden, auch behält die Gelfraktion selbst bei 155° den Charakter einer dicken weißen Suspension bei (vgl. Tabelle VII und VIII). Beim Erhitzen auf 135° werden die spezifische Leitfähigkeit und die elektrometrische Wasserstoffionenaktivität der Amylopektinfraktion mit zunehmender Kochdauer sogar geringer, trotzdem der P_2O_5-Gehalt zunimmt.

So ist also das Erhitzen der Weizenstärke mit Wasser unter Druck nicht imstande, eine Aktivierung der Phosphorsäure hervorzurufen, auch bleibt der an Kartoffelstärke beobachtete hochhydrophile Zustand der Stärkesubstanz vollkommen aus.

VI. Verhalten der Weizenstärke beim Waschen mit HCl und Austrocknen.

Eine viel weiter gehende Peptisation als beim Druckkochen erfahren die Stärkesubstanzen — soweit die Beobachtungen an Kartoffelstärke verallgemeinert werden dürfen — durch Waschen mit verdünnter Salzsäure, Entfernen derselben mit Wasser und gründliches

Tabelle IX.

Charakteristik mit HCl gewaschener und getrockneter Weizenstärke.

	Lösung			Sol			Gel		
	HCl gewaschene Stärke, ungetrocknet	4 Wochen im Vakuum über P_2O_5 getrocknete Stärke	4 Stunden bei 105° C getrocknet	ungetrocknet	4 Wochen im Vakuum über P_2O_5 getrocknet	4 Stunden bei 105° C getrocknet	ungetrocknet	4 Wochen im Vakuum über P_2O_5 getrocknet	4 Stunden bei 105° C getrocknet
Aussehen	weißlich, undurchsichtig	weißlich, undurchsichtig	weißlich, undurchsichtig	weißlich, teilweise durchsichtig	ziemlich undurchsichtige Lösung	ziemlich durchsichtig	undurchsichtig, viskos	gallertig	gallertig
Konzentration . . %	2	2	2	0,94	0,97	0,79	ca. 6,1	ca. 11	ca. 4,6
Relative Menge . %	—	—	—	47	48,5	39,5	53	51,5	60,5
Viskosität t/t_1	1,96	1,85	1,09	1,76	1,50	1,66	2,46	2,50	2,52
Mittlere Molatgröße .	338 000	360 000	366 000	168 000	292 000	361 000	300 000	—	287 000
Dialysabler Anteil . %	1,8	2,5	1,5	4,0	9,5	3,1	1,8	4,7	4,5
Jodfarbe des Ultrafiltrats	blau	blau	violettblau	blau	blau	blau	blauviolett	blauviolett	blauviolett
P_2O_5 in 100 g Trockensubstanz	0,104	0,104	0,104	0,007	0,007	0,013	0,126	0,165	0,125
g-Atom P in 1 Liter 1% Lösung	$14{,}6 \cdot 10^{-5}$	$14{,}6 \cdot 10^{-5}$	$14{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$17{,}7 \cdot 10^{-5}$	$23{,}2 \cdot 10^{-5}$	$17{,}5 \cdot 10^{-5}$
Wasserstoffionenkonzentration in 1 Liter 1% Lösung	$0{,}74 \cdot 10^{-6}$	$1{,}52 \cdot 10^{-6}$	$1{,}67 \cdot 10^{-6}$	$0{,}62 \cdot 10^{-6}$	$0{,}76 \cdot 10^{-6}$	$1{,}26 \cdot 10^{-6}$	$1{,}91 \cdot 10^{-6}$	$2{,}44 \cdot 10^{-6}$	$1{,}49 \cdot 10^{-6}$
1 Liter 1% Lösung verbraucht Äquivalente KOH	—	—	—	—	—	—	$2{,}58 \cdot 10^{-4}$	$1{,}36 \cdot 10^{-4}$	$2{,}42 \cdot 10^{-4}$
Leitfähigkeit in 1% Lösung	$15{,}9 \cdot 10^{-6}$	$15{,}1 \cdot 10^{-6}$	$11{,}4 \cdot 10^{-6}$	$4{,}4 \cdot 10^{-6}$	$5{,}7 \cdot 10^{-6}$	$4{,}9 \cdot 10^{-6}$	$12{,}1 \cdot 10^{-6}$	$33{,}8 \cdot 10^{-6}$	$10{,}8 \cdot 10^{-6}$

Austrocknen. Hierbei spielt, wie *M. Samec* seinerzeit zeigen konnte, die durch die Säurebehandlung hervorgerufene eigensaure Reaktion der Stärke eine ausschlaggebende Rolle.

Wir untersuchten im Rahmen dieser Arbeit nun auch zwei solche Produkte. Einmal wurde die nach der auf S. 341 beschriebenen Weise mit HCl gewaschene Stärke 4 Wochen über P_2O_5 im Vakuum getrocknet, ein andermal 4 Stunden bei 105° gehalten. Die Charakterisierung dieser Produkte, verglichen mit den Eigenschaften nicht getrockneter Stärke, ist in der Tabelle IX gegeben.

Das Aussehen der Lösung und der aus ihr elektrodialytisch erhältlichen Phasen hat sich auch durch diese Behandlung nicht wesentlich verändert, wohl aber hat die Amylopektinfraktion eine mehr gallertige Konsistenz angenommen als bei allen bisher beschriebenen Vorbehandlungen. Besonders das Austrocknen über P_2O_5 liefert eine Gelphase, welche sich schon merklich von den entsprechenden, aus nativer Stärke dargestellten Produkten entfernt. Sie läßt sich elektrodialytisch viel besser konzentrieren (bis auf 11 %), zeigt eine dreimal so hohe elektrische Leitfähigkeit, nahezu um ein Viertel mehr P_2O_5. Die Konzentration der potentiometrisch aktiven H-Ionen ist zwar etwas angestiegen, bleibt aber immer noch in der Größenordnung von 10^{-6}, während der P_2O_5-Gehalt etwa $230 \cdot 10^{-6}$ Grammatomen P pro Liter 1 % Lösung entspricht. Merkwürdigerweise aber bindet die Lösung dieses Stärkeprodukts weniger KOH als sonst die Gele aus nicht getrockneter und aus bei 105° getrockneter Stärke erhaltener. Sonst aber beobachten wir keine Anzeichen einer weitergehenden Peptisation; es sind ja im besten Falle 9 % der gelösten Substanz durch Kollodium permeabel, während bei Kartoffelstärke bei gleicher Vorbehandlung gut 30 % durch Kollodium diffundieren. Diese Abweichung der Weizenstärke ist mit Rücksicht auf die bereits wiederholt betonte Tatsache, daß trotz verschiedener Säurebehandlung die Aktivität der H-Ionen in der Weizenstärke nicht erhöht werden kann, leicht verständlich. So interessant diese hier wieder zutage tretende Verschiedenheit der Weizenstärke und Kartoffelstärke ist, zur Klärung der in dieser Arbeit gestellten Frage konnte das Austrocknen der Weizenstärke nichts beitragen.

VII. Peptisation durch ultraviolette Strahlen.

Mit mehr Erfolg konnten ultraviolette Strahlen zu einer möglichst hydrolysenfreien Peptisation der Weizenstärke ausgenutzt werden. *M. Samec* und *Zorka Antonović* bestrahlten native Weizenstärke mit einer 0,55-kW-Bachlampe in dünner Schicht und in einer Entfernung von 65 cm. Sie konnten feststellen, daß unter den geschilderten Bedingungen nicht nur Kartoffelstärke, sondern auch die Weizenstärke eine weitgehende Peptisation erleidet (Tabelle X).

Tab. X.

Peptisation nativer Weizenstä

Dauer der Bestrahlung in Stunden	Der 2% Lösung		Art der Phasentrennung	Elektrodialytisch nicht fällbare %	Dispersitätsgrad					
					Lösung		Sol		Gel	
	Aussehen	t/t_1			Mittlere Molatgröße	Diffusabler Anteil	Mittlere Molatgröße	Diffusabler Anteil	Mittlere Molatgröße	
0	heiß: gelb, opak; kalt: weiß, undurchsichtig	2,00	langsame Abscheid., unscharfe Trennung, Gallerte weiß, milchig, Sol Spur trüb	22,5	357 000	3,8	156 000	4,9	528 000	1
24	heiß: gelb, fast durchsichtig; kalt: gelblich, undurchsichtig	1,89	mehrere Trennungsflächen, Sol anfangs trüb, nach 24 Stdn. klar. Wellige Trennungsfläche. Gallerte milchig	34,9	260 000	6,8	250 000	25	289 000	2
72	heiß: durchsichtig gelb; kalt: trüb	1,67	gute Trennung. Sol klar an der Plusmembran, Gel an der Flüssigkeitsoberfläche. Minus-Membran und am Boden Sol klar, wird beim Stehen trüb	35,4	196 000	5,9	145 000	22,8	235 500	

Die innere Reibung der Lösung ultraviolett bestrahlter Stärke nimmt mit steigender Bestrahlungsdauer ab, die mittlere Molatgröße sinkt, der ultrafiltrable Anteil steigt und erreicht beim Sol aus 72 Stunden bestrahlter Stärke 16,8%. Im Einklang damit läßt die Trübung der Lösungen nach.

Sehr merkwürdig und auf den ersten Blick unverständlich ist jedoch das Verhalten solcher Lösungen bei der Elektrodialyse. Bei nicht bestrahlter Weizenstärke erfolgt die elektrodialytische Phasentrennung sehr langsam. Die Gallertphase scheidet sich in Form einer trüben, nicht fest zusammenklebenden Masse ab, welche eine höhere spezifische Leitfähigkeit besitzt als das koexistierende Sol. Bei bestrahlter Weizenstärke aber drängt sich die Solphase an die Anodenmembrane, die Gelphase liegt teilweise am Boden, teilweise wird sie an die Kathodenmembrane und an die Oberfläche der Flüssigkeit gedrängt, so daß sie eine halbzylindrische Hülle um die Solphase bildet. Auch im Überführungsapparat wird die Gelphase, welche bei Kartoffelstärke eine stark anodische Wanderung zeigt, von der Anodenseite abgedrängt, als ob sie einen Überschuß an positiver Ladung hätte, oder zumindest in ihrer negativen Ladung stark hinter dem Sol zurückstände.

X.

durch ultraviolette Strahlen.

Ultrafiltrabler Anteil in % der gelösten Substanz		Jodfarbe		Spezifische Leitfähigkeit $K \cdot 10^{-5}$			% P_2O_5		Reduktionsvermögen R_m		
Sol	Gel	Sol	Gel	1% Lösung	Sol	Gel	Sol	Gel	2% Lösung	Sol	Gel
—	—	blau grünlich	blauviol. violettrot	5,7	0,64	1,20	Spur	0,119	0	0	0
—	—	blau grünlich	violett blutrot	6,5	0,022	1,53	Spur	0,056	0	0	0,72
16,8	0	blau violett	violett blutrot	5,7	0,75	0,68	0,088	0,033	4,2	6,86	1,58

Einigermaßen verständlich wird dieses Phänomen, wenn man bedenkt, daß das Sol aus bestrahlter Weizenstärkelösung (nach 72stündiger Bestrahlung) reicher an Phosphor ist als die Gallertphase (erstere enthält 0,088, letztere 0,033 % P_2O_5) und dementsprechend auch eine etwas höhere elektrische Leitfähigkeit besitzt als die Gelphase. So vollzieht sich denn die Kataphorese ausgiebiger an der Solsubstanz und bewirkt so eine Umkehrung des gewohnten Bildes. Auf ein anderes Moment, welches hier bestimmend sein dürfte, kommen wir noch zurück. Effektiv gelang es uns demnach, durch Ultraviolettbestrahlung und die damit verbundene Molatzerkleinerung die phosphorhaltige Komponente in Lösung zu bringen, trotzdem aber bleibt die elektrische Leitfähigkeit dieser Lösung weit hinter dem aus dem P-Gehalt geschätzten Werte zurück. 1 Liter eines 1 % Sols aus 72 Stunden bestrahlter Weizenstärke enthält $1{,}24 \cdot 10^{-4}$ Grammatome Phosphor; wenn diesem ebensoviel konduktometrisch aktive H-Ionen entsprechen würden, müßte die Flüssigkeit bei Vernachlässigung der Leitfähigkeit der Kolloidionen eine spezifische Leitfähigkeit von $4{,}52 \cdot 10^{-5}$ rez. Ohm zeigen, während der Versuch nur $K = 0{,}8 \cdot 10^{-5}$ ergab.

Die Verhältnisse werden nicht anders, wenn eine mit HCl gewaschene Weizenstärke bestrahlt wird (Tabelle XI). Auch hier tritt

Tabelle XI.

Peptisation mit HCl gewaschener Weizenstärke durch ultraviolette Strahlen.

	Sol Dauer der Bestrahlung		Gel Dauer der Bestrahlung	
	0	72 Stunden	0	72 Stunden
Aussehen	durchsichtig, opaleszent	durchsichtig	weißlich, gallertig	weißlich, nicht viskos
Relative Menge . . . %	47,0	54,5	53	45,5
Spez. Leitfähigkeit $K \cdot 10^6$	4,4	9,2	5,8	11,3
g P_2O_5 auf 100 g Trockensubstanz	0,016	0,044	0,126	0,060
g-Atom P auf 1 Liter 1% Lösung	$2,3 \cdot 10^{-5}$	$6,1 \cdot 10^{-5}$	$17,8 \cdot 10^{-5}$	$8,4 \cdot 10^{-5}$
Wasserstoffionenkonz. auf 1 Liter 1% Lösung	$0,7 \cdot 10^{-6}$	$6,6 \cdot 10^{-6}$	$4,1 \cdot 10^{-6}$	$20,0 \cdot 10^{-6}$
1 Liter 1% Lsg. verbraucht zur Neutralisation Äquivalente Na_2CO_3	$0,63 \cdot 10^{-4}$	$1,96 \cdot 10^{-4}$	$0,91 \cdot 10^{-4}$	$1,90 \cdot 10^{-4}$
Auf 1 g-Atom kommen freie Wasserstoffionen . . g	0,02	0,10	0,02	0,25
1 g-Atom P bindet Äquivalente Na_2CO_3	2,4	3,1	0,5	2,2

ein ausgiebiger Anteil des nicht dialysablen Phosphors in der Solphase auf, ihre Leitfähigkeit und H-Ionenaktivität ist relativ höher, doch kommt es auch hier nicht zu jener Korrespondenz zwischen P-Gehalt und den elektrochemischen Eigenschaften, welche wir bei der Knollenstärke zu finden gewohnt sind[1]).

VIII. Die Rolle des Stickstoffs in der Weizenstärke.

Als einziges bisher noch nicht gründlicher berücksichtigtes Moment verbleibt nunmehr der Stickstoffgehalt der Weizenstärke. Wir stellen zunächst in Tabelle XII einige diesbezügliche Beobachtungen zusammen.

Während also durch Behandlung mit verdünnten Säuren, durch Elektrodialyse, Erhitzen unter Druck und anderes die meisten anderen Begleitelemente aus dem Korn mehr oder weniger entfernt werden können, zeigt der Stickstoff eine ähnliche Resistenz wie der Phosphor. Nach ausgiebiger Reinigung stehen diese beiden Elemente sogar in einem nicht sehr variablen Verhältnis, und es hat den Anschein, daß sie Bestandteile einer Verbindung wären und bei den bisher angewendeten „Reinigungsmethoden" nur gleichzeitig das Stärkekorn verließen.

[1]) Es darf nicht übersehen werden, daß bei der Ultraviolettbestrahlung auch eine partielle Oxydation der Stärke erfolgt, welche zur Säurebildung und damit zu einer Erhöhung der Leitfähigkeit und Laugenbindung führt.

Tabelle XII.

Phosphor und Stickstoff in der Weizenstärke.

Untersuchtes Material	100 g Trockensubstanz enthalten Atome 10^5			
	P_2O_5	N	P	N
	g	g	Grammatome	
Natives Korn	0,149	0,076	209	542
Fünfmal mit 1% HCl gewaschen .	0,104	0,064	146	457
Zehnmal „ 1% „ „ .	0,093	0,042	130	299
Fünfmal „ 1% HF „ .	0,112	0,042	157	299
Gelöste Stärke ($^1/_2$ Std. 120°) Gel .	0,115	0,071	161	506
Fünfmal mit 1% HCl gewaschen und $^1/_2$ Std. bei 120° gelöst. Gel .	0,127	0,054	178	394

Die Existenz von Phytovitellinen in der Weizenstärke, welche ja N und P enthalten, wurde seinerzeit bereits diskutiert, und es konnte der Beweis erbracht werden, daß nach gründlichster Extraktion der Weizenstärkekörner mit Ammoniak, bei welcher in der Stärke eventuell deponierte Phytovitelline in Lösung gebracht werden müßten, die Phosphorsäure nicht aus dem Stärkekorn entfernt wird. Es müssen daher die N-haltigen Begleitstoffe in irgend einer anderen Form zur Maskierung der Phosphorsäure beitragen, sei es, daß sie im Korn einfach deponiert sind, sei es, daß sie mit der Stärkesubstanz verbunden sind.

Daß dies in Form eines Salzes, in welchem die Amylophosphorsäure den sauren, und der Eiweißkörper den basischen Anteil repräsentieren würde, geschehen könnte, ist ohne weiteres klar. Auch bei Bestehen eines solchen Proteinamylophosphats müßte aber durch eine genügend starke Base unter Bedingungen, unter welchen das Protein löslich bleibt, die stickstoffhaltige Komponente aus dem Stärkekorn entfernt werden können und ein Amylophosphat erhalten werden, welches den Kartoffelamylophosphaten analog wäre.

Dieses Postulat konnten wir nun tatsächlich auf mehreren Wegen erfüllen, am leichtesten durch Waschen des Kornes mit verdünnter Kalilauge, und zwar in einer solchen Konzentration, daß das Stärkekorn unverquollen bleibt. Nach gründlichem Wegwaschen des Hydroxyds liefert so vorbehandelte Weizenstärke Lösungen, welche Kartoffelstärkelösungen außerordentlich ähnlich sind; elektrodialytisch erhält man jetzt (nachdem die letzten eventuell noch verbliebenen K-Ionen ausgewandert sind) fast durchsichtige, äußerst klebrige Gele mit sehr stark ausgeprägter anodischer Wanderung. In diesen Präparaten ist nun die elektrische Leitfähigkeit bis zu jener Größenordnung angestiegen, wie wir sie bei den Kartoffelstärkelösungen zu finden gewohnt sind, und die elektrometrisch feststellbare H-Ionenaktivität entspricht dem P-Gehalt dieses Produkts (Tabelle XIII).

Tabelle XIII.

Versuch zur Entfernung der stickstoffhaltigen Begleitsubstanz aus der Weizenstärke.

	Weizenstärke gewaschen mit 10% NaCl-Lösung	Weizen gewaschen mit 70% Alkohol	Weizen gewaschen mit 10% NaH_2-Lösung	Weizen gewaschen mit KOH $5 \cdot 10^{-2}$ n	Weizen gewaschen mit Pepsin-Salzsäure*)	Weizenkleister behandelt mit Pepsin-Salzsäure
Aussehen des Amylopektinanteils	weiß, undurchsichtig, klebrig	weiß, undurchsichtig, nicht klebrig	weiß, etwas durchscheinend, sehr klebrig, ganz an der Plus-Membrane	durchscheinend, sehr viskos ganz an der Plus-Membran	weißlich, viskos, hält sich an der Plus-Membran	weiß, undurchsichtig, nicht sehr klebrig
100 g Trockensubstanz des Gels enthalten { g P_2O_5	0,128	0,108	0,094	0,073	0,146	0,116
{ g N	0,031	0,058	0,041	0,021	0,028	0,052
100 g Trockensubstanz des Gels enthalten { g-Atome P	$180 \cdot 10^{-6}$	$152 \cdot 10^{-6}$	$132 \cdot 10^{-6}$	$100 \cdot 10^{-6}$	$205 \cdot 10^{-6}$	$163 \cdot 10^{-6}$
{ g-Atome N	$221 \cdot 10^{-6}$	$372 \cdot 10^{-6}$	$292 \cdot 10^{-6}$	$149 \cdot 10^{-6}$	$199 \cdot 10^{-6}$	$371 \cdot 10^{-6}$
H-Ionenkonzentration in 1 Liter 1% Lösung .	$45,4 \cdot 10^{-6}$	$2,8 \cdot 10^{-7}$	$5,1 \cdot 10^{-6}$	$3,4 \cdot 10^{-4}$	$1,77 \cdot 10^{-6}$	$6,5 \cdot 10^{-7}$
1 Liter 1% Lösung neutral. Äquivalente Base .	$2,03 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	$1,91 \cdot 10^{-4}$	$3,3 \cdot 10^{-4}$	$2,46 \cdot 10^{-6}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
Leitfähigkeit der 1% Gellösung	$2,66 \cdot 10^{-5}$	$0,8 \cdot 10^{-5}$	$6,87 \cdot 10^{-6}$	$6,6 \cdot 10^{-4}$	$1,78 \cdot 10^{-6}$	$6,1 \cdot 10^{-6}$

*) Für 50 g Weizenstärke 0,050 g Pepsin und so viel HCl, daß die Lösung 2% wird.

Mit dem Nachweis, daß die stickstoffhaltigen Substanzen es sind, welche die Besonderheit der Weizenstärke bedingen, läßt sich nun eine Reihe von wichtigen Erscheinungen verstehen, welche bisher immer nur registriert werden konnten, ohne daß man eine befriedigende Erklärung dafür gefunden hätte. Die Verschiedenheit der Hydratation, der mittleren Molatgröße, der Lösungsstabilität, des Leitvermögens, der H-Ionenaktivität, ist ohne weiteres selbstverständlich, wenn man bedenkt, daß in der Kartoffelstärke ein Kalium-, in der Weizenstärke ein Proteinamylophosphat enthalten ist. Das verschiedene Verhalten bei diastatischen Prozessen, bei welchen sowohl der Hydratationsgrad als auch der Peptisationsgrad und die Reaktion der Lösung eine Rolle spielt, konnte vorausgesehen werden. Die von *M. Samec* und *Zorka Antonović* beobachtete, anscheinend kathodische Wanderung gewisser Weizenstärkegele wird verständlich, wenn man bedenkt, daß nach Absättigung der Amylophosphorsäure mit einem Protein nun die basischen Valenzen des letzteren für den Wanderungssinn bestimmend werden können. Auch die in dieser Arbeit immer wieder gefundene Diskrepanz zwischen

der H-Ionenaktivität und dem faktischen Basenaufnahmevermögen verliert jede Besonderheit. Die Anhäufung von Phosphor und Stickstoff in den auch aus anderen Stärkearten erhältlichen Amylocelluloseresten wird verständlich und die Verankerung des Glykogens an Eiweißkörper, von welchen es z. B. durch elektrische Trennungsmethoden nicht befreit werden kann, erscheint auf eine einfache physikochemische Reaktion zurückgeführt. Welcher Mannigfaltigkeit von Zustandsänderungen und Umsetzungen derartige Komplexe zugänglich sind, braucht wohl nicht betont zu werden, und es wird Aufgabe unserer nächsten Mitteilungen sein, in diese komplizierten Gebilde etwas mehr Licht zu bringen. Bereits jetzt läßt sich aber sehen, daß die Art, wie die Spaltung an der Stelle der H_3PO_4-Bindung erfolgt, zu zwei sehr verschiedenen Gruppen von Derivaten führen muß. Die Abtrennung des Proteins nach Salzart liefert die Amylophosphorsäure neben einem Eiweißkörper, die Molekültrennung nach Art einer Verseifung führt zu P-freien Kohlehydraten neben P-haltigen Proteinen.

Zusammenfassung.

Unter gleichzeitiger Betrachtung der elektrochemischen und kolloidchemischen Eigenschaften und der analytischen Merkmale von Weizenstärke konnte Material gesammelt werden, welches zu der Hypothese geführt hat, daß viele an Weizenstärke beobachtete Besonderheiten durch die Annahme einer salzartigen stickstoffhaltigen Verbindung der Amylophosphorsäure erklärt werden können.

Über das Vorkommen des Plasmalogens.

II. Mitteilung:

Über das Vorkommen des Plasmalogens bei Tieren.

Von

K. Imhäuser.

(Aus dem Physiologischen Institut, Chemische Abteilung der Universität Gießen.)

(Eingegangen am 10. Februar 1927.)

Bei ihren Untersuchungen über den Mechanismus der Nucleal-färbung fanden *Feulgen* und *Voit*, daß auch das Protoplasma tierischer Zellen unter gewissen Bedingungen eine Farbreaktion mit fuchsinschwefliger Säure gibt, und sie schlossen daraus auf die Anwesenheit eines dort vorkommenden *Aldehyds*, den sie dann auch präparativ darstellten und *Plasmal* nannten[1]). Das Plasmal findet sich im Organismus nicht frei, sondern in Form einer *Vorstufe*, *Plasmalogen* genannt, in der die Aldehydgruppe wahrscheinlich an eine Komponente noch unbekannter Art gekoppelt ist. Die Aldehydgruppe kann aus dem Plasmalogen freigemacht werden durch Säuren oder — was sehr merkwürdig ist — durch die Einwirkung von Sublimat. Auf dieser Eigenschaft des Plasmalogens beruht sein Nachweis durch die „Plasmalreaktion", wie sie von *Feulgen* und *Voit* angegeben wurde. Mit Hilfe dieser Reaktion konnten *Feulgen* und *Voit* das Plasmalogen in zahlreichen tierischen Geweben wie auch im Serum mikrochemisch nachweisen, während eine Reihe von Körperflüssigkeiten von *Stepp*, *Feulgen* und *Voit*[2]) untersucht wurden.

Mit dem Plasmalogen und Plasmal war eine Gruppe ganz neuartiger Körper aufgefunden worden, für die ein Analogon in der Bio-

[1]) *R. Feulgen* und *K. Voit*, Pflügers Arch. **206**, 1924.

[2]) *W. Stepp*, *R. Feulgen* und *K. Voit*, diese Zeitschr. **181**, 284, 1927.

chemie bisher nicht besteht. Das große Interesse, das diese Körper infolgedessen beanspruchen, veranlaßte uns, weitere Untersuchungen über das *Vorkommen* des Plasmalogens anzustellen, wobei insbesondere festzustellen war, ob das Plasmalogen ein ubiquitärer Körper ist, oder ob es Zellen bzw. Tierarten gibt, in denen es nicht vorkommt; dann aber auch lockte die von *Feulgen* und *Imhäuser* vor kurzem bekanntgegebene Methode zur quantitativen Bestimmung des Plasmals im Serum, zu ermitteln, wie groß der Gehalt der verschiedenen Seren an Plasmalogen ist, und ob es Faktoren gibt, die ihn beeinflussen.

A. Über das Vorkommen des Plasmalogens in den Zellen verschiedener Tierarten und deren Organen.

Zum Nachweis des Plasmals wurde die bekannte Farbreaktion der freien Aldehydgruppe mit fuchsinschwefliger Säure benutzt; die oben angeführte Wirkung des Sublimats im Sinne einer Abspaltung des freien Aldehyds aus dem Plasmalogen ließ uns den vorhandenen Aldehyd als Plasmal erkennen.

Ich ging also so vor, daß ich Kleinlebewesen ganz, von größeren Organismen etwas Gewebe, von anderen auch Gewebsschnitte auf Objektträger aufklebte und über der Flamme fixierte. In jedem Falle werden *zwei* Präparate angefertigt; eins davon wird in destilliertes Wasser, das andere gleichzeitig für 2 bis 3 Minuten in 0,3 n HCl, die 1 Proz. Sublimat enthält, gestellt und dann mit Wasser gründlich ausgewaschen. Danach kommen beide Präparate *gleichzeitig* in eine Küvette mit fuchsinschwefliger Säure[1]). In dem mit Sublimat vorbehandelten Gewebe hat nun das vorhandene Plasmalogen unter Einwirkung des Sublimats Plasmal geliefert, die Aldehydgruppe am Plasmal ist frei und kann *sofort* mit der fuchsinschwefligen Säure unter Farbstoffbildung reagieren; in dem nicht vorbehandelten Präparat ist diese Spaltung noch nicht eingetreten, und da nur die freie Aldehydgruppe mit fuchsinschwefliger Säure reagiert, vorläufig auch keine Möglichkeit zur Farbstoffbildung gegeben. Erst unter Einwirkung der Acidität der fuchsinschwefligen Säure erfolgt auch hier die Aufspaltung des Plasmalogens zu freiem Plasmal und damit die Farbreaktion, die aber *später* auftritt als an dem mit Sublimat vorbehandelten Präparat; auf diese zeitliche Verschiebung ist beim Nachweis des Plasmalogens der größte Wert zu legen; sie allein läßt uns die entstehende Farbe auf Plasmalogen zurückführen, da die Sublimatwirkung so elektiv ist, daß die Reaktion bei Ausfall im eben beschriebenen Sinne etwaige andere noch unbekannte Aldehyde nach unseren bisherigen Kenntnissen über die Vertreter dieser Körperklasse ausschließen läßt. Zur Untersuchung eignet sich nur frisches Material; eine Alkoholbehandlung der Gewebe darf nicht vorausgehen, da der Alkohol diesen das Plasmalogen entzieht; Säuren, oxydierende oder aldehydhaltige Fixationsmittel dürfen aus den an anderer Stelle ausführlich dargelegten Gründen nicht zur Anwendung kommen. Nach dieser Methode, die der von *Feulgen* und *Voit* früher schon angegebenen

[1]) Über die Herstellung der fuchsinschwefligen Säure s. bei *Feulgen* und *Rossenbeck*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **135**, 244, 1924.

Plasmalfärbung entspricht, wurden die Gewebe einzelner Vertreter der verschiedenen Tierklassen auf Plasmalogengehalt untersucht. Es handelt sich für uns dabei vorerst nur um den qualitativen Nachweis; von einer quantitativen Auswertung wurde einstweilen noch Abstand genommen.

Schon die ersten Versuche von *Feulgen* und *Voit* hatten die Anwesenheit des Plasmalogens in einzelligen Lebewesen ergeben; die genannten Autoren konnten ja damals an *Protozoen* aus dem Enddarm des Frosches (Nyctotherus) besonders schön den Unterschied zwischen Nucleal- und Plasmalfärbung, sowie die Überlagerung beider demonstrieren; es sei nur auf die Abb. 3 bis 5 der genannten Arbeit[1]) verwiesen. Unter den *Metazoen* untersuchte ich zunächst als Vertreter der *Coelenteraten* Hydra viridissima, die deutlichen Plasmalogengehalt erkennen ließ. *Echinodermen*, bei denen als Material ja nur Seetiere in Frage kämen, standen mir leider nicht zur Verfügung. Unter den *Würmern* griff ich von den *Plathelminthen* den Leberegel (Distomum hepaticum) heraus; als Vertreter der *Nemathelminthen* diente der Spulwurm (Ascaris), unter den *Anneliden* war der Regenwurm am ehesten zugänglich. Bei allen drei Arten stellte ich mit Muskelgewebe die Reaktion an, die stets einen deutlichen Ausschlag mit einwandfreier Zeitverschiebung in dem oben angeführten Sinne gab. Von den *Arthropoden* wählte ich aus den *Crustaceen* den Flußkrebs, aus den *Insekten* die Biene und aus den *Arachniden* die Spinne als Versuchsobjekte; *sämtliche* Tiere zeigten ebenfalls in ihrem Muskelgewebe eine deutliche, zum Teil sogar recht intensive Plasmalreaktion. Desgleichen lieferten Schnecken als Vertreter der *Gastropoden* und Muscheln als *Lamellibranchier* unter den *Mollusken* in ihrem Gewebe stets eindeutig positive Reaktionen. Weitere Versuche wurden dann an Wirbeltieren angestellt. Auf die Untersuchung eines *Acraniers* (Amphioxus) mußte ich infolge der Schwierigkeit der Materialbeschaffung verzichten. Unter den *Fischen* wählte ich den Seelachs aus, dessen Muskulatur eine zwar im Verhältnis zu anderen Tierklassen schwache, aber doch deutliche Reaktion auf Plasmalogen ergab. Von *Amphibien* hatte uns der Frosch schon bei früheren Versuchen des öfteren als leicht zugängliches Material gedient; Plasmalogen wurde bei ihm in den verschiedensten Organen wiederholt nachgewiesen. Von den *Reptilien* untersuchte ich Muskulatur der Schildkröte ebenfalls mit positivem Ergebnis. Bei *Vögeln* konnten wir des öfteren Plasmalogen sowohl in Organen, wie auch im Blutserum von Gänsen und Hühnern nachweisen. *Säugetiere* wurden in größerer Anzahl untersucht; ich nenne nur Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Hund, Ziege, Hammel, Rinder und andere mehr, bei denen wir in sämtlichen bisher untersuchten Zellen des Körpers und im Serum

[1]) *R. Feulgen* und *K. Voit*, Pflügers Arch. **206**, 389, 1924.

Plasmalogen feststellen konnten, wenn auch die Reaktionen sich oft erheblich hinsichtlich ihrer Intensität unterschieden. Das gleiche gilt von Organen und Serum des *Menschen*; auch hier erhielt ich stets eindeutig positive Ausschläge der Plasmalreaktion.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß sich dieser Körper im Zellplasma als typischer Vertreter *aller* Tierstämme vorfindet. Wenn der Nachweis bezüglich der *Echinodermen* bisher aus äußeren Gründen noch nicht erbracht werden konnte, so dürfen wir doch annehmen, daß er sich leicht führen läßt, da wir innerhalb der Tierreihe sowohl bei den minder als bei den höher organisierten Arten stets positive Befunde erhielten. Wir können also feststellen, daß die *Zellen aller tierischen Organismen* diesen Aldehyd in Form seiner Vorstufe enthalten, und werden ihm in Anbetracht dieser außerordentlich weiten Verbreitung wohl eine besondere Bedeutung im Chemismus des Zelllebens zuschreiben müssen.

Bei obigen Untersuchungen war, soweit sie die Klasse der *Säugetiere* betrafen und verschiedene höher differenzierte Organe und Gewebe verglichen werden konnten, bereits aufgefallen, daß Schnitte mancher Organe im Vergleich zu anderen eine ganz besonders intensive Plasmalreaktion aufwiesen. Es schien daher von Interesse, der Frage nach dem *relativen Plasmalgehalt* der Gewebe der höher organisierten Tiere, insbesondere der Säugetiere, weitere Aufmerksamkeit zu schenken. Eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Plasmalogen in Geweben besitzen wir bisher noch nicht. Immerhin ließ sich bei vergleichenden Untersuchungen an verschiedenen Organen auch eine quantitative Abschätzung vornehmen, die wenigstens ungefähre Anhaltspunkte ergab. Ich ging dabei so vor, daß ich von den zu untersuchenden Organen auf dem Gefriermikrotom Schnitte *von stets gleicher Dicke* (30 μ) anfertigte und makroskopisch die Intensität der Färbung beurteilte.

Zwecks Unterbrechung von autolytischen Prozessen und zur Erzielung einer gewissen Fixation legte ich kleine Stückchen[1]) der Organe vorher auf zwei- bis dreimal 24 Stunden in eine etwa 8proz. Kupfersulfatlösung ein. Danach wurden die Organstücke 12 Stunden in fließendem Wasser ausgewaschen und dann in Gelatine eingebettet nach folgendem Verfahren: 8 g weiße Speisegelatine werden in kaltem Wasser zum Quellen gebracht und mehrmals unter Wechseln des Wassers gründlich ausgewaschen; der Rest des nicht bei der Quellung aufgenommenen Wassers wird gut abgepreßt, einige (etwa 10) Tropfen heiß gesättigter wässeriger Thymollösung zugegeben und das Ganze bis zum Gewicht von 40 bis 45 g

[1]) Es dürfen nur kleine Organstückchen in Kupfersulfatlösung eingelegt werden, da diese das Gewebe in größeren Tiefen nicht durchdringt. Ein langes Verweilen der Organe in der Lösung ist für vorliegende Untersuchungen nicht anzuraten, da wir die Empfindlichkeit des Plasmalogens gegen diese Behandlung nicht genau kennen.

mit Wasser aufgefüllt; alsdann bringt man die Gelatine auf dem Wasserbad zur Lösung und filtriert heiß durch ein Faltenfilter. Mit dieser nicht mehr zu warmen Gelatinelösung werden die Organstückchen in kleinen Porzellantiegeln, deren Innenfläche mit einer hauchartigen Schicht Öl eingefettet ist, übergossen und bedeckt für 4 bis 6 Stunden in einen auf 37° gehaltenen Brutschrank gestellt. Danach läßt man die Gelatine an der Luft durch Erkalten, eventuell unter Umspülen der Tiegel mit kaltem Wasser, erhärten; mit einer Nadel gibt man den Organstücken vorher die gewünschte Lage zur späteren Schnittrichtung. Die Gelatineblöcke lassen sich nach Lösen von der Wand mit einem schmalen Spatel leicht aus den Tiegeln herausstürzen und dann auf dem Gefriermikrotom schneiden. Will man nicht sogleich schneiden, so ist die Gelatine vor Verdunsten ihres Quellungswassers zu schützen, was am bequemsten dadurch geschieht, daß man die Tiegel mit der Öffnung nach unten in eine Petrischale stellt, deren Boden mit einer dünnen Schicht Wassers bedeckt ist; unter Nachfüllen des verdunstenden Wassers lassen sich die Blöcke so an einem kühlen Orte immerhin einige Tage aufbewahren. Die Gefrierschnitte werden aus Wasser auf Objektträger übertragen und mit Eiweißglycerin aufgeklebt. Das Herauslösen der Gelatine erfolgt nach Fixieren über der Flamme in Wasser von 30° fast augenblicklich.

Mit diesen Schnitten wurde nun die typische Plasmalfärbung in der oben beschriebenen Weise angestellt. Die Färbung der Präparate wird bei längerem Verweilen in der fuchsinschwefligen Säure intensiver und erreicht nach etwa 1 bis 2 Stunden bei dem mit Sublimat vorbehandelten Präparat ihre maximale Stärke. Bleiben die Präparate viele Stunden in der fuchsinschwefligen Säure, so spaltet diese auf Grund ihrer Acidität auch die Thymonucleinsäure der Zellkerne, und wir erhalten neben der Plasmalreaktion auch eine schwache Nuclealfärbung, was für unsere Zwecke unerwünscht ist. Zur quantitativen Abschätzung der gefärbten Präparate ging ich nun so vor, daß ich die nach 1 bis 2 Stunden beobachtete Farbintensität der Präparate untereinander verglich, wobei ich einen Schnitt aus Muskulatur als Vergleichsobjekt benutzte. Die Intensität der vorhandenen Färbung deute ich durch die Anzahl von Kreuzen an, wie dies bei der Wassermannreaktion oder ähnlichen Reaktionen ja auch üblich ist. Die Beurteilung der gefärbten Schnitte erfolgte stets erst nach Übertragen in SO_2-haltiges Wasser, da geringe Farbgrade in der schwach gelb gefärbten, fuchsinschwefligen Säure schwer auszuwerten sind.

Zur *Kritik* dieser Methode sei von vornherein bemerkt, daß ich mir ihrer Mängel sehr wohl bewußt bin, sie aber dennoch anwandte, da eine bessere vorerst nicht zur Verfügung stand. Es haftet dem Urteil selbst bei Gebrauch von Vergleichspräparaten stets eine subjektive Note an, um so mehr, als sich die Untersuchungen über einen längeren Zeitraum erstreckten, da das Material nicht gesammelt zur Verfügung stand, auch nicht auf einmal nebeneinander hätte aufgearbeitet werden können. Ein Vergleich mit alten Präparaten ist nicht zulässig, da diese schon nach kurzer Zeit erheblich abblassen. Ferner ergeben sich Schwierigkeiten für die Beurteilung durch die gänzlich verschiedene Dichte der Gewebe; liegt geschlossen Zelle an Zelle, so wird ein solcher Schnitt als intensiver gefärbt imponieren als bei maschenartigem Gewebe mit Hohlräumen, trotz gleich starker Färbung der Einzelzelle. Ich habe durch Vergleich unter dem Mikroskop diese Fehlerquelle nach Möglichkeit auszuschalten gesucht. Zuletzt sei noch ein Punkt erwähnt, der bei der Auswertung

stark angefärbter Präparate nicht außer acht gelassen werden darf. Ist bei einer bestimmten Intensität der Färbung ein gewisser Sättigungswert an Farbstoff erreicht, so wird auch ein größerer Farbzuwachs nicht mehr als solcher bemerkbar sein und muß für die Beurteilung unberücksichtigt bleiben.

Bei der Untersuchung der verschiedenen Organe richtete ich mein Augenmerk zunächst auf die *Leber*. *Feulgen* und *Voit*[1]) hatten bei ihren ersten Untersuchungen über das Plasmalogen auch Färbungen verschiedener Organe vorgenommen und dabei beobachtet, daß die Leber — untersucht wurden Frösche und Ratten — sich nur sehr schwach färbte. Die mikroskopische Untersuchung solcher Schnitte ergab, daß eigentlich nur die Zellen des Gefäßbindegewebsapparats gefärbt waren; die Leberzellen selbst ließen keine merkliche Färbung erkennen; die genannten Autoren dachten deshalb an eine Sonderstellung der Leber im Plasmalogenstoffwechsel. Quantitative Untersuchungen des Pfortader- und Lebervenenbluts beim Hunde, die auf Grund dieser Beobachtungen von *Feulgen*, *Voit* und *Imhäuser*[2]) angestellt wurden, ergaben *keine* Differenz zwischen beiden Seren, weder beim nüchternen Tiere, noch auf der Höhe der Resorption nach einer sehr plasmalogenreichen, d. h. fleischreichen, Mahlzeit. Auch beim *Kaninchen* erwies sich bei meinen Versuchen die Leber an Gefrierschnitten nur wenig plasmalogenhaltig, aber sie zeigte doch eine deutliche Färbung, die sich unter dem Mikroskop einwandfrei als dem *Plasma der Leberzellen* eigen erkennen ließ. Wir glauben daher jetzt, gestützt auf die unten noch folgenden Untersuchungsergebnisse, daß Anhaltspunkte für eine Sonderstellung der Leber nicht gegeben sind.

Nächst der nur ganz schwach angefärbten Leber färbte sich die *Muskulatur* des Kaninchens schon etwas intensiver; noch stärkere Färbung wies die *Niere* auf. Ich möchte die genannten Organe folgendermaßen einreihen:

Leber: +, Muskulatur: ++, Niere: +++.

Von besonderem Interesse scheinen die Ergebnisse eines Vergleichs des Plasmalogengehalts der *Nervensubstanz* mit dem anderer Organe zu sein. Die *weiße* Hirnsubstanz ergibt eine außerordentlich kräftige Reaktion, während die *graue* sich viel weniger intensiv färbt. Besonders schön läßt sich diese Differenz des Plasmalogengehalts an *Kleinhirn*schnitten demonstrieren, da sich hier die weiße Substanz scharf gegen die graue absetzt. Man erhält dann makroskopisch sehr hübsche Bilder, an denen die baumartig verästelte weiße Hirnsubstanz maximal blaurot gefärbt sich mit scharfer Grenze von der sie umgebenden grauen Schicht,

[1]) *R. Feulgen* und *K. Voit*, Pflügers Arch. **206**, 1924.
[2]) Die Versuche wurden nicht veröffentlicht.

die nur mäßig starke Färbung aufweist, abhebt; graue Substanz: ++, weiße Substanz: +++++. Ähnlich liegen die Verhältnisse im *Rückenmark*: graue Substanz: +++, weiße Substanz: ++++; der Unterschied ist hier nicht so ausgesprochen. *Periphere Nerven* weisen ebenfalls reichlichen Plasmalogengehalt auf: N. ischiadicus: ++++. Nicht so intensiv färbt sich *Hypophyse*: +++. Jedenfalls dürfen wir den erhöhten Plasmalogengehalt nach diesen Befunden wohl den Markscheiden der Nervenfasern zuschreiben, da mit ihrem Auftreten sich auch kräftigere Reaktionen mit fuchsinschwefliger Säure einstellen. Recht interessante Verhältnisse fanden wir auch bei der *Nebenniere*; die *Rinde* färbt sich in fuchsinschwefliger Säure *sehr intensiv*: +++++, *viel stärker als das Mark*: ++.

Diese Befunde, also das besonders reichliche Vorkommen von Plasmalogen in der weißen Hirnsubstanz und der Rinde der Nebenniere beanspruchen nun deshalb unser erhöhtes Interesse, weil diese histologischen Elemente bekanntlich auch reich an „Lipoiden", insbesondere Phosphatiden, sind. Es scheint also, daß das Plasmalogen mit solchen vergesellschaftet vorkommt, und die Befunde von *Stepp*, *Feulgen* und *Voit*, die im Eigelb einen besonders hohen Plasmalogengehalt festgestellt haben, sprechen in demselben Sinne. Aber auch die präparative Aufarbeitung jener plasmalogenhaltigen Emulsion, wie sie *Feulgen* und *Voit* als Ausgangsmaterial zur Darstellung des Plasmals benutzten, deutet auf ein gemeinsames Vorkommen von Plasmalogen und Phosphatiden hin. *Feulgen* und *Voit* hatten zuvor mit Wasser ausgelaugtes Fleisch mit Alkohol extrahiert und aus dem alkoholischen Auszug den Alkohol abgedampft. Es hinterblieb eine sehr stabile Emulsion, die, wie neuere Versuche von *Feulgen* und *Imhäuser*, über die später berichtet werden wird, ergaben, im wesentlichen aus Phosphatiden besteht. Dieses Phosphatidgemisch wurde nun durch Behandeln mit Aceton, Fällung mit Cadmiumchlorid usw. nach den Regeln der Phosphatidchemie aufgeteilt, und hierbei ergab sich, daß das Plasmalogen immer vorwiegend in die Phosphatidfraktion, und zwar in erster Linie in die Lecithinfraktion, hineingeht. Also auch bei präparativer Bearbeitung zeigt sich, daß Plasmalogen und Phosphatide vergesellschaftet vorkommen, wobei noch ungeklärt ist, ob die Beziehungen zwischen diesen beiden Körperklassen engere im chemischen Sinne sind.

In einem Schnitt durch die Nebenniere fanden sich in der Übergangszone von Mark zur Rinde sehr intensiv gefärbte, punktförmige Gebilde, die vielleicht mit den von den Histologen beschriebenen „Lipoidkörnchen" identisch sind; ich sah sie allerdings nur in diesem einen Präparat. Bei sehr intensiv gefärbten Schnitten mögen sie bisweilen dadurch nicht in Erscheinung treten, daß bereits die Färbung der ganzen Rinde den Sättigungswert der Farbe erreicht hat.

Des weiteren stellte ich vergleichende Untersuchungen dieser Art beim *Hunde* an, deren Ergebnisse ich folgendermaßen zum Ausdruck bringen möchte:

Muskulatur	++	
Milz: Pulpa	++	
Trabekel	+	
Gl. thyreoidea	++	
Hypophyse	++	
Leber	+++	(Bindegewebsapparat: +).
Niere	+++	besonders in den Epithelien der Harnkanälchen).
N. ischiadicus	++++	
Kleinhirn: weiße Substanz	++++	sehr scharfe
graue „	++	Grenze.
Großhirn: weiße „	++++	allmählicher
graue „	++	Übergang.
Nebenniere: Rinde	+++++	sehr scharfe
Mark	++	Grenze.

Auch hier finden wir also etwa die gleichen Verhältnisse vor, wie beim Kaninchen. In Milz und Leber erwies sich der Bindegewebsapparat relativ plasmalogenarm; in der Niere zeigten die Epithelien der Harnkanälchen die intensivste Färbung; die weiße Hirnsubstanz wies reichlichen Plasmalogengehalt auf, während die graue merklich hinter ihr zurückstand; *die Nebennierenrinde zeigte eine fast blauschwarze Farbe, die infolge der Intensität der Reaktion keinerlei Einzelheiten erkennen ließ*; Mark und Rinde waren sehr scharf gegeneinander abgesetzt.

Zuletzt seien noch Ergebnisse von gleichartigen Untersuchungen beim *Menschen* angeführt. Das dabei verwandte Material entstammte Leichen, die im Pathologischen Institut zu Gießen zur Sektion kamen[1]). Ich möchte die vergleichende Auswertung der Organschnitte wie folgt wiedergeben:

Muskulatur	+++	
Herzmuskel	+++	
Gl. thyreoidea	++	
Milz	++	
Pankreas	+++	
Leber	++++	
Niere	+++	(besonders in den Epithelien d. gewund. Harnkanälchen).
Hypophyse	++++	(im Vorderlappen).
Kolloide Substanz	+	
Nervöse „	++	
Bindegewebe	+	
Kleinhirn: weiße Substanz	+++++	sehr scharfe
graue „	++	Grenze.
Nervenstrang vom Plexus sarcalis	+++++	
Nebenniere: Rinde	+++++	keine Körnchen,
Mark	++	scharfe Grenze.

[1]) Für freund. Überlassung des Materials bin ich den Herren Privatdozent Dr. *Stoeckenius* und Dr. *Steinreich* und *Börner* zu Dank verpflichtet.

Es läßt somit diese Übersicht erkennen, daß das Verhältnis des Plasmalogengehalts der verschiedenen Organe auch hier ungefähr das gleiche ist, wie bei den oben genannten Tieren. *Wiederum zeichnen sich weiße Nervensubstanz und Nebennierenrinde durch besonderen Reichtum an Plasmalogen aus.* Auch hier finden wir die scharfe Abgrenzung der baumartig verästelten weißen Substanz im Kleinhirn gegen die schmale graue Rindenzone. Das gleiche Bild einer scharfen Scheidung zwischen Rinde und Mark liefert die Nebenniere; „Lipoidkörnchen" oder als solche anzusprechende Gebilde fanden sich nicht. In der Niere wiesen wieder die Epithelien der Harnkanälchen, besonders die der gewundenen, die intensivste Färbung auf. Der nervöse Teil der Hypophyse war entsprechend seiner Zugehörigkeit zur grauen Hirnsubstanz nur mäßig angefärbt. Die Nebennierenrinde eines $2\frac{1}{2}$jährigen Kindes, das an Sinusthrombose ad exitum kam, war anscheinend weniger plasmalogenhaltig: +++.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß bei den verschiedenen Organen der höheren Tiere beträchtliche Differenzen im Plasmalogengehalt vorhanden sind, die in der Farbintensität gleich dicker Gewebsschnitte nach Behandlung mit fuchsinschwefliger Säure ihren Ausdruck finden. Den geringsten Plasmalogengehalt weist danach das Bindegewebsgerüst parenchymatöser Organe auf; nicht allzu beträchtliche Mengen finden wir in der Muskulatur und im Parenchym von Milz, Gl. thyreoidea und Pankreas, ebenso, vielleicht auch etwas mehr, in der Leber; danach wäre die Niere einzureihen, in der das Plasmalogen vornehmlich in den Epithelien der Harnkanälchen lagert. *Höchste Plasmalogenmengen zeigen die Organe, die sich auch durch besonderen Reichtum an Lipoiden auszeichnen*, vor allem die weiße Hirnsubstanz und die peripheren Nerven. Intensivste Färbungen erzielten wir an der Rinde der Nebenniere, während das Mark, wie auch die graue Hirnsubstanz, viel weniger stark angefärbt waren.

B. Über den Gehalt verschiedener Seren an Plasmalogen.

Unser weiteres Interesse galt dem Verhalten des Plasmalogens *im Blutserum*. Schon mit Hilfe der oben erwähnten Plasmalreaktion ließ sich erkennen, daß diese bei Verwendung des Serums verschiedener Tiere hinsichtlich Intensität und Schnelligkeit der Farbstoffbildung außerordentlich verschieden ausfiel. Es lohnte deshalb, den Plasmalogengehalt des Serums verschiedener Tiere zu untersuchen. Nähere Aufschlüsse waren aber nur mit Hilfe einer quantitativen Untersuchungsmethode zu gewinnen.

Es lag nahe, die oben erwähnte Farbreaktion des Plasmals mit fuchsinschwefliger Säure einer quantitativen Auswertung zu unter-

ziehen. So gelangten *Feulgen* und *Imhäuser*[1]) zu einer kolorimetrischen Bestimmungsmethode des Plasmalogens im Serum, bei der unter Einwirkung einer bestimmten Acidität während längerer Zeit (etwa 18 Stunden) das freie Plasmal aus dem Plasmalogen des zu untersuchenden Serums abgespalten und mit gleichzeitig zugegebener fuchsinschwefliger Säure in Farbreaktion gebracht wird. Der so entstehende Farbstoff, der im Serum kolloidal gelöst ist, wird direkt der Kolorimetrie unterworfen, wobei als Standardfarbe der mit rein dargestelltem a-Plasmalthiosemicarbazon erzeugte Farbstoff benutzt wird, der in einem als Schutzkolloid dienenden „Hilfsserum" ebenfalls kolloidal in Lösung gehalten wird. Die bei der kolorimetrischen Ablesung störenden Faktoren, wie Trübung des Serums, Eigenfarbe des Serums und der Reagenzien und Eigenplasmalogengehalt des Hilfsserums, werden durch Kompensation im *Bürker*schen Kolorimeter eliminiert. Für eine Bestimmung benötigt man 4 ccm Serum. Da das Molekulargewicht des Plasmalogens gar nicht, das des Plasmals noch nicht mit Sicherheit feststeht, so berechnen wir das Plasmal vorerst in Form von a-Plasmalthiosemicarbazon, das auch als Standardsubstanz dient. Entsprechend dem Molekulargewicht für das freie Plasmal müssen diese Werte mit einem Faktor multipliziert werden, der wahrscheinlich bei 0,787 liegt und später endgültig mitgeteilt wird. Da die ermittelten Werte vorerst nur als Vergleichswerte Interesse haben, so ist dieser Faktor nebensächlich, zumal er sich nicht erheblich von 1 unterscheidet. Bezüglich aller Einzelheiten der Methode muß auf die Originalarbeit verwiesen werden.

Mit dieser Methode wurden verschiedene uns zugängliche Tierarten auf den Plasmalogengehalt ihres Serums untersucht, wobei sich beträchtliche Differenzen ergaben.

Durch einige Vorversuche vermochten wir uns davon zu überzeugen, daß ein Unterschied im Plasmalogengehalt des *Blutplasmas*, gewonnen durch Zentrifugieren von Ammoniumoxalatblut, und des *Serums*, gewonnen durch einfaches Absitzen über dem Blutkuchen, nicht besteht; als Werte ergaben sich z. B. beim Hammel:

	Im Serum mg pro Liter	Im Plasma mg pro Liter
Blut A	5,1	4,9
Blut B	5,4	5,4

Auch erwiesen sich arterielles und venöses Blut als gleichwertig. Ich verwandte deshalb zu den vorliegenden Untersuchungen stets Serum, das durch Punktion der Vena jugularis oder von Schlachthof-

[1]) *R. Feulgen* und *K. Imhäuser*, diese Zeitschr. **181**, 30, 1927.

tieren bei der Schlachtung gewonnen wurde, bei einigen kleineren Tieren auch durch Herzpunktion. Sofern das Serum kühl aufbewahrt und vor bakterieller Zersetzung geschützt wird, ändert sich der Plasmalogengehalt im Verlauf mehrerer Tage nicht, so daß man, wenn wenig Blut zur Verfügung steht, dieses erst gut absitzen lassen kann. Ich verwandte das Serum meist 24 bis 36 Stunden nach der Blutentnahme zu den Bestimmungen, erhielt aber auch nach weiteren 24 bis 48 Stunden bei Kontrolluntersuchungen noch die gleichen Werte. Hochgradig hämolytisches Serum ist zur kolorimetrischen Auswertung weniger geeignet, weil dann das Reaktionsgemisch infolge von Hämatinbildung nach Säurezusatz so tiefbraun werden kann, daß es im Kolorimeter nicht mehr genügend Licht zur Ablesung hindurchläßt.

Für die Auswahl der Tiere waren gewisse Grenzen gegeben, insofern, als mir nur eine beschränkte Zahl von Tierarten zugänglich war, die ausreichende Mengen von Blut zur Gewinnung des Serums herzugeben vermochten. Somit wurden folgende Tierarten untersucht: Pferd, Schwein, Hammel, Schaf, Ochse, Kuh, Rind, Kalb, Ziege, Hund, Hahn, Kaninchen, außerdem Serum vom Menschen. Kranke Individuen wurden von den Untersuchungen ausgeschlossen, da es sich zunächst um die Ermittlung der Serumwerte bei gesunden Tieren handelte.

Bei diesen Untersuchungen zeigte sich nun, daß beträchtliche Schwankungen innerhalb der Tierreihe gefunden werden; die höchsten Werte können das 10- bis 15fache der niederen betragen. Als Tierarten mit niederen Werten erwiesen sich Hammel, Ziege, Schwein, Kaninchen; dann folgen Hahn und Hund, sodann der Mensch mit mittleren bis höheren Werten, danach etwa das Pferd; die höchsten Werte endlich fanden wir bei Ochsen und Kühen (s. untenstehende Tabelle auf S. 374).

Zur Beurteilung der gefundenen Werte haben wir zunächst die Frage zu klären, ob der Plasmalogenwert beim Einzelindividuum nicht durch gewisse Faktoren beeinflußt werden kann, oder ob er sich unter allen Umständen konstant verhält. Sieht man von Gravidität und Erkrankungen ab, so waren in erster Linie *alimentäre Einflüsse*, *Geschlecht* und *Alter* in Betracht zu ziehen.

Alimentäre Einflüsse.

Im Rahmen unserer Betrachtungen muß man die vegetarische Nahrung streng von der animalischen unterscheiden. Letztere ist sehr plasmalogenreich, während in pflanzlichen Geweben Plasmalogen überhaupt noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden ist. Wenn Plasmalogen in Pflanzen vorkommt, dann ist seine Menge jedenfalls sehr viel geringer als in tierischem Material. Es war also von vornherein zu erwarten, daß alimentäre Einflüsse, die auf den Plasmalogengehalt des Blutes einwirken, bei Pflanzenfressern kaum eine Rolle spielen.

Dies wurde durch den Versuch bestätigt. Ich prüfte nämlich den Einfluß der Nahrungsaufnahme auf den Plasmalogenspiegel im Blutserum des Hammels und konnte keine Unterschiede gegenüber dem Nüchternwert finden.

	Vormittags nüchtern mg Plasmal im Liter Serum	Nachmittags nach Nahrungsaufnahme mg Plasmal im Liter Serum
Versuch A . . .	4,3	—
„ B . . .	4,0	4,1
„ C . . .	3,8	4,1

Außerdem erwies es sich als gleichgültig, ob Grünfutter oder Körnerfutter gegeben wurde.

In *tierischen* Zellen findet sich dagegen, wie oben erwähnt, das Plasmalogen stets in deutlich nachweisbarer Menge; es wird also auch bei *Fleischfressern* oder sich teilweise von animaler Kost ernährenden Arten reichlich mit der Nahrung zugeführt. Wenn es in nennenswerter Menge aus dem Darme resorbiert wird, so kann mit einem Ansteigen des Plasmalogenspiegels des Blutes gerechnet werden. *Feulgen* und *Imhäuser* werden demnächst in einer anderen Mitteilung darlegen, daß dies in der Tat der Fall ist, und dort näher auf die Frage der alimentär bedingten Plasmalwerte des Serums eingehen.

Für die Ermittlung genauer Werte wäre das Versuchstier unter *fleischfreier* Kost auf Konstanz des Plasmalogenspiegels des Serums einzustellen; einfaches Aussetzen animalischer Nahrung — etwa für 3 Tage — genügt nicht, da sich danach nur ein Plasmalogenwert ergeben würde, der noch wesentlich von der Menge des vorher zugeführten Plasmalogens abhängig ist. Wird die fleischfreie Ernährung allerdings längere Zeit fortgesetzt, so resultiert ein Serumwert, der dann, nachdem er auf einer bestimmten Höhe angelangt ist, zäh festgehalten wird. So zeigte ein Versuchshund bei gemischter Kost einen Wert von 24,6 mg pro Liter und bei nur *wenig* Fleischzulage zu vegetarischer Nahrung ein Absinken auf 15,3 mg pro Liter; nach 8 Tagen *fleischfreier* Kost ergaben sich 7,9 mg pro Liter, und dieser Wert wurde dann über längere Zeit ungefähr festgehalten; nach 18 Tagen 9,0 mg pro Liter, nach 28 Tagen 8,2 mg pro Liter, nach noch längerer Zeit fleischfreier Ernährung 9,0 mg pro Liter. Es sei dazu noch bemerkt, daß wir vorläufig „plasmalfreie" und „fleischfreie" Kost identifizieren, da ja das Vorkommen von Plasmalogen in Vegetabilien noch nicht erwiesen ist; wenn es überhaupt dort vorkommen sollte, so sind jedenfalls die mit vegetabilischer Nahrung zugeführten Mengen Plasmalogens sehr gering. Genau die gleichen Grundsätze, die hier für die Beurteilung von Werten beim Hunde dargelegt wurden, haben auch für Untersuchungen beim

Menschen zu gelten; neben den unten angeführten Durchschnittswerten von etwa 27 bis 29 mg pro Liter beim Menschen findet sich auch ein solcher von 15,8 mg pro Liter; es handelt sich um ein mehrere Tage fleischfrei ernährtes Individuum[1]).

Geschlecht.

Betrachten wir einige Tierarten nach *Geschlechtern* getrennt, so ergeben sich folgende Werte:

Plasmalgehalt der Seren verschiedener Tiere, ausgedrückt in Milligrammen Plasmalthiosemicarbazon pro Liter Serum.

	Ochsen ♂	Kühe ♀	Pferde ♂	Pferde ♀	Hammel ♂	Schafe ♀
Tier 1	85,7	56,5	26,0	34,1	6,0	9,4
„ 2	66,6	83,3	23,9	34,5	5,6	8,4
„ 3	71,4	69,8	20,5	23,5	6,2	4,7
„ 4	29,8	52,6	27,4	28,9		5,3
„ 5	41,6	67,9	28,9	33,4		6,6
„ 6	45,5	46,2				
„ 7	55,6	46,9				
„ 8	54,6	47,6				
Mittel:	56,4	60,1	25,3	30,9	5,9	6,9

Diese aus der Tabelle ersichtlichen Werte lassen schließen, daß große Unterschiede zwischen beiden Geschlechtern nicht gegeben sind. Indessen ist zu ihrer Kritik zu bemerken, daß es sich bei den männlichen Tieren stets um kastrierte Individuen handelte; nicht kastrierte standen mir nicht zur Verfügung. Ich prüfte deshalb diese Frage nochmals an *Kaninchen* und fand bei einem Männchen 10,4, bei einem Weibchen 11,9 mg im Liter. Im Serum weiblicher Tiere scheint also etwas mehr Plasmalogen vorhanden zu sein als im Serum männlicher.

Alter.

Hinsichtlich des *Alters* unserer Tiere sei bemerkt, daß durchweg ausgewachsene Individuen zur Untersuchung herangezogen wurden. Nur eine Gruppe unseres Materials, die *Kälber*, gestattet im Vergleich mit ausgewachsenen Tieren (Ochsen und Kühen), diese Frage nach einer durch verschiedenes Alter bedingten Differenz der Werte zu beleuchten. Betrachten wir die Werte für ausgewachsene Tiere, so ist aus der obigen Tabelle ein Mittelwert von 58,3 mg pro Liter zu errechnen, der sich aus den beiden Serumwerten für männliche und weibliche Tiere mit 56,4 bzw. 60,1 mg pro Liter ergibt. Demgegenüber stehen die Kälber mit folgenden Werten:

[1]) Unsere Untersuchungen bei Menschen sind noch zahlenmäßig zu gering, um ein Urteil zu erlauben, und werden noch fortgesetzt.

	mg pro Liter		mg pro Liter
Kalb 1	16,3	Kalb 8	32,6
„ 2	33,4	„ 9	17,3
„ 3	24,6	„ 10	21,0
„ 4	21,8	„ 11	17,6
„ 5	26,3	„ 12	19,5
„ 6	20,3		
„ 7	17,3	Mittel:	22,3

Im Mittel finden wir also für ausgewachsene Tiere 58,3 mg pro Liter Serum, während für die Kälber ein Mittelwert von nur 22,3 mg pro Liter resultiert. *Bei einem Vergleich dieser Zahlen tritt die Differenz zwischen ganz jugendlichen und ausgewachsenen Tieren klar zutage.* Das Kalbsserum entstammte stets Schlachttieren, die ein Alter von etwa 1 bis 3 Wochen erreicht hatten. Bei den jugendlichen Tieren wäre also nach diesem Befund ein bedeutend niedrigerer Plasmalogenspiegel des Blutes anzunehmen. Des weiteren werde ich auf diese Frage in einer besonderen Mitteilung eingehen. Für die Ermittlung von Normalwerten des Plasmalogens im Serum bei bestimmten Tierarten ist also die Heranziehung ausgewachsener Tiere zu fordern.

Weitere Einflüsse auf den Plasmalogenspiegel des Serums als die hier erwähnten, sind uns bisher, wenigstens unter physiologischen Bedingungen, nicht bekannt, wiewohl die Möglichkeit ihrer Existenz auf Grund unserer bisherigen Untersuchungen nicht negiert werden soll.

Unter Ausschaltung obiger Einflüsse prüfte ich nun das Verhalten des Plasmalogenspiegels im Serum beim Hammel, um zu sehen, mit welchen Schwankungen hier beim *Einzelindividuum* gerechnet werden muß. Die über eine längere Zeit ausgedehnte Beobachtung *desselben Tieres* ergab folgende Wertereihe: 5,5, 6,3, 6,0, 6,8, 7,4, 5,1, 5,6, 5,4, 6,0; Mittel = 6,0 mg pro Liter.

Die Werte gruppieren sich also zwischen einem Minimum von 5,1 und einem Maximum von 7,4 um einen Mittelwert von 6,0 mg pro Liter. Innerhalb dieser Grenze aber wird der angezeigte Wert festgehalten. Auf eine ähnliche Beobachtung habe ich ja bereits oben bei Erörterung der alimentären Einflüsse auf den Plasmalogenspiegel im Serum des Hundes hingewiesen. Auch dort wurde gefunden, daß der fleischfrei ernährte Hund ein bestimmtes Minimum mit großer Zähigkeit festhält.

Wenden wir uns nun der Betrachtung der Werte für *verschiedene Tierarten* zu, so könnte man geneigt sein, für den Fleischfresser, dem ja ständig mit der Nahrung eine bedeutende Menge Plasmalogens zugeführt wird, einen besonders hohen Plasmalogengehalt anzunehmen, und möchte vielleicht bei Pflanzenfressern die niedrigeren Werte erwarten. Daß dem nicht so ist, zeigt ein Blick auf die untenstehende

Tabelle. Gerade die höchsten Werte finden wir dort beim ausgesprochenen Pflanzenfresser (Rindvieh), während Fleischfresser und auch der Mensch nur mittlere Werte aufweisen. In folgender Tabelle sind die bei den verschiedenen Tierarten gewonnenen Werte zusammengestellt[1]).

Plasmalogengehalt des Serums in Milligrammen pro Liter:

Tier	Ochse, Kuh, Rind	Kalb	Pferd	Mensch *)	Hund *)	Hahn	Kaninchen	Ziege	Schwein	Hammel, Schaf
1	29,8	16,3	20,5	15,8	12,2	12,5	6,5	9,7	4,7	4,7
2	40,6	17,3	23,5	27,3	12,5	13,1	8,8	10,1	4,7	5,3
3	41,6	17,3	23,9	27,3	14,6		10,4	10,1	5,1	5,6
4	45,5	17,6	26,0	27,3	17,6		11,9	11,1	5,5	6,0
5	46,2	19,5	27,4	29,4			12,9		6,4	6,2
6	46,9	20,3	28,9				13,9		6,6	6,6
7	47,6	21,0	28,9						6,8	8,4
8	48,4	21,8	33,4						6,9	9,4
9	51,8	24,6	34,1						6,9	
10	52,6	26,3	34,5							
11	54,6	32,6								
12	55,5	33,4								
13	55,6									
14	56,5									
15	57,8									
16	66,6									
17	67,9									
18	69,8									
19	69,8									
20	71,4									
21	75,0									
22	83,3									
23	85,7									
Mittel:	57,4	22,3	28,1	27,8	14,2	12,8	10,7	10,3	6,0	6,4

*) Morgens nüchtern entnommen; die Unterschiede sind alimentär bedingt.

Diese Übersicht läßt, wie schon oben betont, erkennen, daß der Plasmalogenspiegel des Serums je nach der Tierart eine ganz verschiedene Höhe aufweist, und daß beträchtliche Differenzen in Erscheinung treten, derart, daß die höchsten Werte das 10- bis 15fache der niedrigsten betragen. Selbst nahe verwandte Tierarten unterscheiden sich stark durch den Plasmalogengehalt ihres Serums; so werden z. B. gerade die höchsten (Rindvieh) und niedrigsten (Hammel) Werte innerhalb der Gruppe der Wiederkäuer gefunden. Wir entnehmen der Tabelle ferner, daß *jeder Tierart ein für sie charakteristischer Mittelwert zukommt*, um den sich die bei den Einzelindividuen ge-

[1]) Für die Unterstützung bei der Beschaffung von Serum bin ich den Herren Assistenten der Gießener Veterinärkliniken und der medizinischen Universitätsklinik zu Dank verpflichtet.

fundenen Werte gruppieren. Freilich finden sich bei derselben Tierart oft nicht unbeträchtliche Schwankungen in den Einzelwerten, die aber die charakteristischen Unterschiede im Plasmalogengehalt des Serums mancher Tierspezies nicht verwischen können. So schwankt zwar der Plasmalogengehalt im Serum des Hammels etwa zwischen 4,7 und 9,4 mg pro Liter, doch erreicht er nie die Höhe der Werte bei Rindern (etwa 60) und Pferden (etwa 20).

Zusammenfassend läßt sich auf Grund der vorliegenden Plasmalogenbestimmungen im Blute also sagen, daß ein Unterschied der Werte zwischen Serum und Oxalatblutplasma nicht gegeben ist. Es hat den Anschein, als ob im Serum weiblicher Tiere etwas mehr Plasmalogen vorkommt als im Serum männlicher. Das *Alter* kann von sehr *wesentlichem Einfluß* auf den Plasmalogenwert des Serums sein, insofern als z. B. Kälber bedeutend niedrigere Werte aufweisen als Ochsen und Kühe. Desgleichen ist *alimentären Bedingungen weitgehendste Beachtung* zu schenken: vegetabile Nahrung bleibt ohne erkennbaren Einfluß auf den Plasmalogengehalt des Serums, während animale Kost beträchtliche Schwankungen hervorrufen kann; ein bestimmter Minimalwert wird auch vom längere Zeit fleischfrei ernährten Fleischfresser zäh festgehalten. Bei Vergleich der Seren *verschiedener Tierarten* ergeben sich *beträchtliche Differenzen* im Plasmalogengehalt, die unabhängig sind von der Art der Ernährung; für *jede Tierart* muß man einen *charakteristischen Durchschnittswert* annehmen. Abweichungen von diesem kommen bei Untersuchung mehrerer Individuen derselben Tierart wie auch beim Einzelindividuum vor, ohne daß die oben genannten Faktoren — Alter oder Ernährung — dafür verantwortlich gemacht werden könnten; sie bedürfen weiterer Aufklärung.

Zu den Versuchen wurden Mittel der Gießener Hochschulgesellschaft mit benutzt.

Über die Zucker- und Brenztraubensäuregärung.

Von

A. Lebedew.

(Aus dem wissenschaftlichen Forschungsinstitut für Chemie der I. Moskauer Universität.)

(Eingegangen am 18. März 1927.)

Im Jahre 1916 habe ich mit *Polonski* (1) die Kinetik der Vergärung von Zucker und Brenztraubensäure durch Trockenhefe verfolgt und festgestellt, daß erstens Rohrzucker in äquimolekularen Mengen bedeutend schneller als Brenztraubensäure vergoren wird, und zweitens daß, unabhängig von der Reaktion des Mediums, nur etwa 40% der zugesetzten Säure vergoren werden (2). Der Rest wird in Nebenreaktionen hineingezogen und für die Gärung untauglich gemacht. Viel günstigere Ergebnisse wurden in dieser Hinsicht von mir und *Polonski* (3) mit Glycerinsäure erhalten, wahrscheinlich darum, daß sie sich nur allmählich in Brenztraubensäure umwandelt, wobei diese zuerst in Enolform erscheint, die möglicherweise leichter vergärbar ist.

Im Jahre 1926 habe ich diese Versuche mit Mazerationssaft wiederholt und das gleiche Ergebnis erhalten. Ich schrieb damals: „Es liegt hier ein interessanter und bedeutsamer Fall vor, daß eine allgemein anerkannte Zwischenverbindung der alkoholischen Gärung, *auf einmal zugesetzt*, langsamer und unvollständiger gärt als der Ausgangsstoff" (4). *Hägglund* mit Mitarbeitern hat nun seinerseits zahlreiche vergleichende Versuche über die Vergärbarkeit der beiden Hexosen und Brenztraubensäure ausgeführt (5), in denen er, obwohl meine Arbeiten auch nicht einmal erwähnt sind, doch zu demselben Schluß wie ich kommt. Er beschreibt sogar Fälle, in welchen die Zymase noch tätig, die Carboxylase aber unwirksam ist. Solche Fälle habe ich noch nie beobachtet, vielmehr gerade das Gegenteil, und wenn sie auch von anderer Seite Bestätigung finden werden, so wird diese Beobachtung von größerer Tragweite für die Erkenntnis des Gärungsmechanismus und die Prüfung der jetzt herrschenden Gärungstheorien; vorläufig scheint sie mir jedoch ziemlich zweifelhaft. Die Angabe von *Hägglund* und *Augustsson*, daß *Abderhalden* und *Fodor* die Induktionszeit zuerst (im Jahre 1921) beobachtet haben, ist nicht richtig, da diese Beobachtung von mir schon im Jahre 1911 gemacht und erklärt wurde (6).

Anhang.

Nachdem diese Mitteilung geschrieben war, habe ich Kenntnis von der Arbeit von *Neuberg* (7) genommen, in welcher er feststellt, daß Brenztraubensäure bei der richtigen Pufferung in n/10-Lösung schneller als

Glucose vergärt. Meine und *Polonskis* Versuche mit Trockenhefe und Mazerationssaft (l. c. J., S. 336 und Fermentforschung, S. 82) wurden ohne Pufferung ausgeführt, wobei ich, um p_H möglichst nicht zu ändern, für Rohrzucker die Konzentrationen kleiner als n/40 und n/80 und für Brenztraubensäure kleiner als n/10 und n/20, also etwa 0,8 und 0,4% Lösungen dieser beiden Stofte angewandt habe. Es scheint mir, daß durch die künstliche Pufferung die Zymase oder Carboxylase begünstigt wird (8), und daß es infolgedessen besser wäre, von der Pufferung Abstand zu nehmen, um so mehr, als z. B. Mazerationssaft von der Natur ab schon gut gepuffert ist. Jedenfalls beabsichtige ich, die Versuche, die ich vor 11 Jahren mit *Polonski* angefangen habe, mit der Berücksichtigung von p_H wieder aufzunehmen.

Literatur.

1) J. **49**, 328, 1917; vgl. auch Hoppe-Seylers Zeitschr. f. phys. Chem. **132**, 285, 1924. — 2) J. **49**, 94, 1917. — 3) a. a. O., S. 344. — 4) Fermentforsch. **9**, 82, 1926. — 5) Diese Zeitschr. **170**, 118, 1926; **181**, 158, 1927. — 6) Ann. de l'Inst. Past: **26**, 20, 1912. — 7) Diese Zeitschr. **180**, 470, 1927. — 8) Vgl. dazu *A. Hahn* mit *Harpuder* und *Michalik*, Zeitschr. f. Biol. **71**, **73**, **74** und **76**.

Untersuchungen über die Zusammensetzung der Zellmembran auf Grund einer neuen Methode zur Bestimmung der Oberflächenspannung.

Von

Stuart Mudd und **Emily B. H. Mudd.**

(Aus dem Henry-Phipps-Institut und Department of Pathology, University of Pennsylvania, Philadelphia.)

(Eingegangen am 18. März 1927.)

Aus einer Reihe von Tatsachen geht hervor, daß die Eigenschaften der Oberfläche der lebenden Zelle hinsichtlich ihrer Reizbarkeit, des Übertritts gelösten Materials und der Aufnahme von ungelösten Partikeln in die Zelle von besonderem Interesse sind. Das Protoplasma der Oberfläche bildet zumeist eine spezielle Schicht, deren Merkmale in mancherlei Beziehungen der Zelle zu ihrer Umgebung sorgfältig zu studieren sind. Durch die Anwendung analytischer und selbst mikrochemischer Methoden wurden bisher leider nur sehr mangelhafte Ergebnisse betreffs der Zusammensetzung der Zellmembran erhalten. Eine Erweiterung unserer Kenntnisse ließe sich erhalten durch eine kürzlich ausgearbeitete Methode, die sich mit der Oberflächenzusammensetzung der normalen Zelle sowie mit der Wirkung verschiedener Reagenzien auf die Zelle beschäftigt. Die Zellen oder andere zu prüfende Stoffe werden in der Phasengrenze zweier Flüssigkeiten untersucht; man erhält so ein unmittelbares Bild von der relativen Benetzbarkeit des Stoffes an der Zellenoberfläche in zwei flüssigen Phasen. Durch geeignete Auswahl des Materials und der experimentellen Bedingungen könnten durch derartige Beobachtungen wertvolle Kenntnisse gesammelt werden hinsichtlich vieler Fragen der Oberflächenchemie und Oberflächenphysiologie der Zelle. Es ist zu hoffen, daß eine kurze Zusammenfassung der mit Hilfe dieses Verfahrens erhaltenen Ergebnisse Veranlassung gibt, die Methode auf weitere Probleme der Biochemie anzuwenden und auf andere Gebiete der Kolloidchemie auszudehnen.

Betrachten wir eine feste Partikel in der Phasengrenze zwischen Wasser und einer organischen Flüssigkeit (1). Die Partikel wird sich so

einstellen, daß sich im Gleichgewicht befindet: $Tso = Tsw + Tow \cos \Theta$, wobei Tso die Spannung (Tension) an der Grenzoberfläche der festen und organischen Phase, Tsw die Spannung an der festen und wässerigen Grenzoberfläche, Tow die Spannung an der Grenzoberfläche der zwei Flüssigkeiten und Θ der Berührungswinkel zwischen der wässerigen und festen Phase bei irgend einem Punkt 0 auf der Oberfläche der festen Partikel ist (2).

Die notwendigen Bedingungen für das Gleichgewicht der Partikel in der Grenzoberfläche sind, daß $Tso < Tsw + Tow$ und $Tsw < Tso + Tow$.

Wenn $Tso > Tsw + Tow$, so werden die Phasengrenzen nach der organischen Seite verschoben, bis die Partikel vollständig benetzt und eingehüllt wird durch die wässerige Phase. Wenn $Tsw > Tso + Tow$, so wird das Teilchen benetzt und eingehüllt durch die organische Phase. Jede dieser drei Möglichkeiten kann mit bestimmten Zellen realisiert werden. Die Untersuchungsmethode wurde an anderem Orte beschrieben und illustriert (3).

Sie besteht kurz in folgendem: ein Tröpfchen (nicht ein ganzer Tropfen) der wässerigen Zellsuspension und ein Tropfen der organischen Phase werden auf einen sorgfältig gereinigten Objektträger gebracht. Man bringt ein Tröpfchen der Zellsuspension auf den Objektträger am bequemsten mittels einer Öse, welche vorher wiederholt abwechselnd mit destilliertem Wasser gewaschen und in der Flamme des Bunsenbrenners ausgeglüht war. Das Öl wird auf den Objektträger gebracht, indem man diesen mit einem Öltropfen berührt, der am Rande des Glasstopfens des Gefäßes hängt, in welchem das Öl aufbewahrt wird. Darüber wird nun ein reines Deckglas (4) derart gelegt, daß die Zellsuspension an der einen Seite des Deckglases zu einem Häutchen und die an die wässerige Phase anstoßende organische Phase zu einem Häutchen ausgebreitet wird. Das Präparat wird dann in einem mit Dunkelfeldkondensor ausgestatteten Mikroskop untersucht.

In einem solchen Präparat zeigt sich die flüssig-flüssige Phasengrenze als eine helle Linie, oft mit Interferenzstreifen, und die Zellen erscheinen als glänzende Objekte gegen einen dunklen Hintergrund. War das Präparat richtig angefertigt (3), so tritt die organische Phase langsam in die wässerige über, derart, daß die suspendierten oder sedimentierten Zellen von der fortschreitenden Grenzphase langsam eingeholt werden. Sie reagieren an der Grenzoberfläche charakteristisch gemäß des Grades der physikalisch-chemischen Ähnlichkeit (5) und somit der Benetzbarkeit der Zellenoberfläche und der zwei flüssigen Phasen (6).

In den hier beschriebenen Versuchen wurden als organische Phase meistens Triglyceride der Fettsäuren (Tributyrin, Tricaprylin und Triolein) verwendet; unter dem „Öle" ist, wenn nicht anders vermerkt, eine dieser drei Fettarten zu verstehen.

Mellon hatte jüngst die Methode der Grenzphasentension zu makroskopischen Untersuchungen angewandt, indem er Bakterien in verschiedenen Salzlösungen-Ölemulsionen schüttelte und die Verteilung der Zellen zwischen den zwei flüssigen Phasen beobachtete (7).

Daten über die Beziehungen der Oberflächentension gewisser Zellen.

Die Mehrzahl der in dieser Hinsicht untersuchten Zellen erreicht ein Gleichgewicht in der Grenzoberfläche zwischen der wässerigen und organischen Phase; i. e. $Tso < Tsw + Tow$ und $Tsw < Tso + Tow$. Die Zellen können wiederum nach ihrer größeren Benetzbarkeit mit Wasser oder mit dem Öle verteilt werden.

Die roten Blutkörperchen der Säugetiere zeigen eine gewisse Stabilität in der Grenzoberfläche, aber sie gehen bereitwillig in das Öl über; ihre Benetzbarkeit mit dem Öle ist anscheinend größer als ihre Benetzbarkeit mit der wässerigen Phase. An einer anderen Stelle besprochene Resultate zeigen (8), daß in der Oberfläche der roten Blutkörperchen der Säugetiere Lipoide und Proteine enthalten sind. *J. A. Bradley* und der Autor fanden, daß auch die nucleinhaltigen roten Blutkörperchen des Frosches und des Huhnes nur eine geringe Stabilität in der Öl—Wasser-Grenzphase besitzen, und daß sie mit geringer mechanischer Hilfe in das Öl übergehen.

Menschliche *polymorphnucleäre Leucocyten* in frisch geronnenem Blute dringen in die Phasengrenze ein, sie wurden in Form einer Linse herausgezogen und über die Phasengrenze verteilt unter vollständiger Zerstörung des Cytoplasmas (8). Solche Leucocyten sind erst bei Zimmertemperatur und dann während langsamer Erwärmung des Präparats auf ungefähr 50° C beobachtet worden (8). Während des Erwärmungsprozesses setzten die Leucocyten der Benetzung durch das Öl zunehmenden Widerstand entgegen; zu gleicher Zeit wurde ein Wechsel in ihrer inneren Struktur bemerkbar, der auf eine gallertartige Beschaffenheit des Protoplasmas hinwies. Im letzten Stadium schoben sich die erwärmten Leucocyten vor die vorwärtsstrebende Ölphase oder, am Glase angeklebt, verhinderten sie den Fortschritt der Grenzfläche örtlich, bis die „Halbinsel" und selbst Tröpfchen der wässerigen Leucocyten-enthaltenden Phase im Öl zurückgelassen wurden. Demnach verminderte die durch die Wärme verursachte Schädigung der Leucocyten ihre Ölbenetzbarkeit, bis der Zustand $Tso > Tsw + Tow$ erreicht oder beinahe erreicht wurde.

Kaninchenblutplättchen zeigten in Übereinstimmung mit den menschlichen Leucocyten einen größer werdenden Widerstand gegenüber Benetzung mit den Ölen (Mineralöle und Lebertran und geschmolzene Vaseline), wenn man sie der Hitze aussetzte (8).

Bakterien, mit Ausnahme der säurefesten Mikroorganismen, besitzen ebenfalls Stabilität in der Öl—Wasser-Phasengrenze und werden

dort in hohem Grade adsorbiert (9). Die den verschiedenen beobachteten Ölen entgegengebrachte Oberflächenspannung der Bakterien scheint in der Regel größer zu sein als die gegen die wässerige Phase.

Spermatozoen (menschliche, Meerschweinchen) erreichen ebenso ein beständiges Gleichgewicht in der Öl—Wasser-Phasengrenze. Menschliche Spermatozoen sind im Samen entweder unverdünnt oder mit einer Salzlösung verdünnt studiert worden, mit Tricaprylin als organischer Phase. Die Spermatozoen haben, wenn sie unbehindert sind, die Neigung, sich durch die Grenzflächenspannung orientieren zu lassen, derart, daß sich der Kopf und ein Teil oder der ganze Schwanz in der Phasengrenze befinden; die Spermatozoen können dann durch strömende Bewegungen längere Strecken längs der Phasengrenze von Regionen niedrigerer zu solchen höherer Grenzflächenspannungen getragen werden. Spermatozoen, die frei gegen die Phasengrenze schwimmen, mögen von dieser als einer unüberwindlichen Barriere zurückkehren; in einem solchen Falle ist die Phasengrenze zweifellos bereits mit einer Adsorptionsschicht versehen. Oder der Kopf und ein Teil des Schwanzes dringen in die Phasengrenze ein und orientieren sich wie oben beschrieben. Fortgesetzte Schwanzbewegungen mögen die Spermatozoen die Phasengrenze entlang tragen; gewöhnlich werden sie aus der Phasengrenze in die wässerige Phase hinausbefördert.

Wenn die sedimentierten und am Glase klebenden Spermatozoen von der vorwärtsdringenden Phasengrenze überholt werden, mag die Phasengrenze mit geringer oder sogar mit gar keiner Deformation am Schwanz entlanggleiten; wenn sie aber den Kopf erreichten, so ist sie sichtbar rückwärts gebeugt, was auf einen bestimmten Widerstand des Kopfes beim Versuch, in das Öl einzudringen, hindeutet. Spermatozoen von Meerschweinchen können durch Durchschneiden des Vas Deferens oder Epididymis, Ausmilchen der Spermatozoen in einer 0,8% NaCl-Lösung oder *Locke*schen Lösung erhalten werden. Auf diese Weise gewonnene Spermatozoen sind gewöhnlich in Bündeln von zwei und mehr aufgefunden worden, mit den Köpfen in einer weichen, interzellularen Matrix steckend, und mit den Schwänzen in paralleler Richtung zueinander liegend, entweder ruhig oder sich nur schwach bewegend. Wenn die vorwärtsschreitende Grenzfläche die interzellulare Substanz erreicht, so breitet sich diese aus, wodurch eine lokale Herabminderung der interfazialen Spannung und eine lokale Vorwärtsbewegung der Grenzfläche stattfinden. Der Durchbruch der wirklichen Spermaköpfe durch die Grenzfläche vermindert ihr Vorwärtsschreiten, zeigt jedoch einen Widerstand gegen die Benetzung durch Öl, ähnlich dem der menschlichen Spermatozoenköpfe.

Spermatozoenköpfe bestehen aus Nucleoprotein (96%), aus anorganischen Salzen und einer eisenorganischen Verbindung. Die

Schwänze sind reich an phosphorhaltigen Fetten, die von Cholesterin, Fetten und einem typischen Protein begleitet sind (10). Spermatozoenköpfe und Bakterien im Gegensatz zu Blutzellen bleiben hinsichtlich ihrer Form von den interfazialen Spannungen unverändert.

Spermatozoen sind im Gegensatz zu polymorphkernigen Leucocyten und Thrombocyten hinsichtlich ihrer interfazialen Spannungsverhältnisse nach ihrer Beschädigung nicht wesentlich verändert gefunden worden. Menschliche Spermatozoen sind nach Waschung und Aufbewahrung in 0,8% NaCl-Lösung von einigen bis 24 Stunden, ja selbst 6 Tagen studiert worden. Sie sind in ähnlicher Weise 6 Tage in einer isotonischen $CaCl_2$-Lösung gewaschen und aufbewahrt worden; sie sind 1 Stunde bei 60 bis 65° C erhitzt worden. Ihr Verhalten in Filmen gegenüber Tricaprylin war — mit Ausnahme ihrer Bewegungsfähigkeit — in allen Fällen, wie schon geschildert, ähnlich der der unbeschädigt im Samen eingeschlossenen Spermatozoen.

Säurefeste Bakterien (11) sind allen anderen bisher studierten Zellentypen insofern entgegengesetzt, als sie von selbst von der Grenzfläche in die Tricaprylin oder Oleinsäure passieren, i. e. $Tsw > Tso + Tow$. Durch die Berührung der Phasengrenze mit den losen Klumpen der meisten säurefesten Bakterien bewegt sich die Phasengrenze vorwärts, zerstreut die Klumpen explosionsartig und schleudert die Bakterien ins Öl. Dies ist in sehr vielen Fällen gegenüber Tricaprylin mit Rindertuberkelbazillen, Vogeltuberkelbazillen und den Tuberkelbazillen von Kaltblütern wie auch gegenüber mehreren säurefesten Saprophyten beobachtet worden. Mit anderen Fetten als Tricaprylin fanden wir einen sehr mäßigen Grad von Stabilität in der Grenzfläche, aber doch einen viel kleineren, als bei anderen Zellentypen beobachtet wurde. Ein atypischer Stamm von Rindertuberkelbazillen, nämlich der Bazillus von *Calmette* und *Guérin* (12), und die wenigen bisher studierten Stämme des menschlichen Tuberkelbazillus haben eine mäßige Stabilität in der Tricaprylin—Salzlösung-Phasengrenze gezeigt. Ob nun diese nur wenig geringere Benetzbarkeit mit Öl als charakteristischer, die menschlichen Tuberkelbazillen von typischen Rindertuberkelbazillen und anderen säurefesten Bakterien trennender Faktor angesehen werden muß, ist durch unsere Versuche vorläufig unentschieden.

Die auffällige Benetzbarkeit des Öles mit den Oberflächen der säurefesten Bakterien steht in Übereinstimmung mit den Resultaten der chemischen Analyse, die diese Bakterien unter den pathogenen Bakterien einzigartig erscheinen lassen in ihrem ungewöhnlich hohen Gehalt an Lipoiden (13). Das Studium des kataphoretischen Verhaltens von Tuberkelbazillen durch *Freund* (14) hat eine in mancher Hinsicht große Ähnlichkeit mit vielen von Protein umhüllten Partikeln ergeben. Es

scheint sich demnach zu ergeben, daß die Oberflächen der säurefesten Bakterien komplex sind und am wenigsten Lipoid- und Proteinbestandteile enthalten.

Interessante Oberflächenveränderungen der Bakterien in bezug auf das besondere Problem der Färbung der säurefesten Bakterien können durch fortdauernde Extraktion dieser Mikroorganismen durch 95% Alkohol im Soxhletapparat erzielt werden. Die so extrahierten Bakterien sind stabil in der Phasengrenze. Einige von Dr. *J. D. Aronson* durch 4 Wochen extrahierte Rindertuberkelbazillen verhielten sich in der Phasengrenze wie gewöhnliche (nicht säurefeste) Bakterien; nichtsdestoweniger behielten sie ihre Säurefestigkeit. Es existieren in der Literatur zwei widersprechende Ansichten über die Säurefestigkeit (15): die erste stützt sich auf die Annahme einer verhältnismäßig undurchlässigen Schutzhülle um den Organismus (16); die zweite sucht die Säurefestigkeit der Bazillen im Hinblick auf das in ihnen enthaltene säurefeste Wachs zu erklären. Die Beobachtung, daß eine Extraktion die Oberfläche der Bakterien so völlig verändern kann, ohne ihre färbenden Eigenschaften aufzuheben, scheint die erste Erklärung auszuschließen. Eine anscheinend zufriedenstellende Theorie ist kürzlich von *Long* bekannt gegeben worden (15).

Der Einfluß von Immunserum auf die Zellenoberfläche.

Die interfaziale Spannungsmethode hat sich beim Studium des Reaktionsmechanismus zwischen gewissen Zellen und ihren entsprechenden Immunseren gut bewährt. Die Behandlung der roten Blutkörperchen mit spezifischem Immunserum erhöht die Widerstandsfähigkeit derselben gegen das Benetzen mit Öl und vergrößert die Stabilität derselben in der Phasengrenze ganz bedeutend. Die weitere Analyse der Reaktion wies darauf hin, daß der hämolytische Amboceptor des Antiserums sich in der Hauptsache mit alkohollöslichem Material an der Oberfläche der roten Blutzellen verbindet und daß das Agglutinin sich wahrscheinlich in erster Linie mit dem Protein verbindet (8).

Impfung von Kaninchen mit menschlichen Spermatozoen bewirkt Antiseren, welche die enthaltenen Spermatozoen agglutinieren. Jeder Klumpen ist eine kleine Verfilzung von Spermien, die gewöhnlich entweder Kopf an Kopf oder Kopf an Schwanz zusammenhängen. Solche Klumpen zeigen Stabilität in der Phasengrenze und biegen bei ihrem Übergehen in Öl die Phasengrenze zurück; dieses Verhalten ist nicht bedeutend verschieden von dem Verhalten der Köpfe der Spermafäden.

Eine milde Infektion mit Tuberkelbazillus oder einem anderen säurefesten Bazillus und nachfolgende intravenöse Impfungen mit dem getöteten Bazillus erzeugen im Kaninchenserum Antikörper gegen den eingeimpften Bazillus (17). Eine Behandlung der Bazillen mit

Tabelle I. Titration von avian- und bovin-Immunseren mit homologen Mikroorganismen.

	Immunserumverdünnungen						
	1:12,5	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
M. avium-Immunserum M. avium	++	+	+ (schwach)	—				—
M. avium-Immunserum M. tuberculosis (Bovin III)	+	+	—	—			—	
M. tuberculosis-Immunserum M. tuberculosis (Bovin III)	++++	++++	+++	+++	+ bis ++		+	+ (schwach)
M. tuberculosis-Immunserum M. avium	+++		++	+	+ (schwach)	—	—	

Ziege, antituberkulöses Immunserum viel stärker als Kaninchen-antiavium-Immunserum. Mäßige Kreuzreaktionen zwischen bovin- und avian-Stämmen.

wachsenden Konzentrationen solcher Immunseren führt einen wachsenden Widerstand gegen das Benetzen mit Öl herbei. Auch die Kohäsion der Klumpen wird durch die Behandlung mit Immunserum bedeutend vergrößert. Der Effekt des Serums ist serologisch spezifisch; die Interaktion ist stark zwischen dem Immunserum und den entsprechenden Mikroorganismen und mäßig zwischen Serum und nahe verwandten Mikroorganismen. Mit Immunserum und nicht verwandten Mikroorganismen (17) (18) oder mit normalem Serum kommt eine bemerkenswerte Erhöhung der Widerstandskraft gegen das Benetzen mit Öl nur als Resultat der Behandlung mit konzentrierten Seren vor.

Die Spezifität derjenigen Reaktionen, durch die immune Seren die Oberfläche der säurefesten Bakterien verändern, wurde durch die Bestimmung der Titer in dieser interfazialen Reaktion für verschiedene Serum-Bakterienmischungen sowohl wie auch durch Adsorptionsversuche erwiesen. In den Tabellen I und II wurde je ein Beispiel gegeben. Nachdem die Bakterien in Serumverdünnungen über Nacht im Eisschrank aufbewahrt worden waren, wurden sie vor dem Studium in der Salz—Öl-Phasengrenze in einer Salzlösung gewaschen. Die Pluszeichen zeigen verschiedene Grade der Veränderung der Bakterien-

Tabelle 11. Adsorptionsversuche.

	Immunserumverdünnungen								
	1:2,5	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
M. tuberculosis (Bovin 816) Immunserum									
Unadsorbiert, geprüft mit Bovin III			++		+ bis ++	+	+ schwach	+ schwach	—
Adsorbiert von Bovin 816 (250 mg), geprüft mit Bovin III		+	+ schwach	+ sehr schwach	—				
Adsorbiert von Bovin 816 (100 mg), geprüft mit Bovin III		+		+ schwach	+ sehr schwach	+ sehr schwach	—		
Adsorbiert von Bovin III (400 mg), geprüft mit Bovin III		±	—						
Adsorbiert von Bovin III (100 mg), geprüft mit Bovin III		+		+ sehr schwach		+	—		
Unadsorbiert, geprüft mit „Lepra-Bazillus“ von *Duval*			+	+		+ schwach	+ sehr schwach	—	
Adsorbiert von Bovin 816 (100 mg), geprüft mit „Lepra-Bazillus“		+	—	—					
Adsorbiert von „Lepra-Bazillus“ (100 mg), geprüft mit „Lepra-Bazillus“		—							
Unadsorbiert, geprüft mit Bovin C		++++		++		+ bis ++	+ bis ++	—	∓
Adsorbiert von Bovin C (250 mg), geprüft mit Bovin C	—	—							
Adsorbiert von Bovin III (250 mg), geprüft mit Bovin C		+ bis ++	+	+ schwach	—				
Adsorbiert von „Lepra-Bazillus“ (250 mg), geprüft mit Bovin C		+ bis ++	++	+	+	+ schwach	—		

Antituberkulöses Immunserum (4 ccm von verdünntem Serum, 1:4 verdünnt) wird adsorbiert und geprüft mit den folgenden Stämmen: Mycobacterium tuberculosis (Bovin C und Bovin 816, homolog mit dem Immunserum); M. tuberculosis Bovin III (atypischer Stamm) und „Lepra-Bazillus“ von *Duval*. Starke Kreuzreaktionen wurden beobachtet mit Bovin III, geringe Kreuzreaktionen mit „Lepra-Bazillus“.

oberfläche an, wie sie in der Salz—Tricaprylin-Phasengrenze beobachtet wurden.

Die Bindung der Antikörper, wie sie durch die interfaziale Reaktion beobachtet wurde, läuft parallel mit der von Agglutinin (19).

Die Oberflächen der Bakterien werden durch Gebrauch frischer, normaler Seren in einer Weise verändert, die sie quantitativ weniger, qualitativ aber gar nicht von dem Effekt immuner Seren unterscheidet. Sensitizieren mit normalen Seren verringert die Ölbenetzbarkeit und verstärkt die Kohäsion der säurefesten Bakterien, in geringerem Grade jedoch und mit niedrigerem Titer als mit homologen Immunseren. Eine 30 Minuten dauernde Erwärmung von Schaf-, Ziegen-, Kaninchen- und menschlichen Seren auf 56° C verringert gewöhnlich, hebt aber nicht ihre Wirkung auf die Bakterienoberfläche auf. Meerschweinchenserum nach Inaktivierung war ohne bemerkbaren Einfluß auf die Oberfläche der Bakterien.

Die sensitizierende Substanz. Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Antikörper aufs innigste mit den Serumglobulinen verbunden sind und die Globuline durch verschiedene chemische Manipulationen begleiten. Obwohl ein bemerkenswerter Fortschritt in der Kenntnis der Beziehung zwischen Antikörpern und den Globulinfraktionen kürzlich von *Felton* (20) festgestellt wurde, so bleibt es doch ungewiß, ob die Antikörper als besondere Arten von Globulinen oder als getrennte, die Globuline begleitende chemische Substanzen angesehen werden müssen. Wie dem auch sein mag, überzeugende Beweise sind ganz kürzlich von *Shibley* (21) dafür erbracht worden, daß die Bindung von Agglutininen mit verschiedenen Bakterien diesen einen Oberflächenbezug von Globulin gibt. *Shibleys* Kurven zeigen an, daß sich Globulinteilchen und Bakterien, welche Agglutinin aus konzentrierten, homologen Antiseren adsorbierten, in kataphoretischen Versuchen in derselben Weise verhalten. Daß das auf der Oberfläche der Bakterien adsorbierte Globulin denaturiert ist, wird durch Analogie mit den Eigenschaften anderer auf Oberflächen adsorbierter Proteine sowohl wie auch durch die Ausfällungsreaktionen der sensitizierten Bakterien selbst angezeigt.

Durch das Entgegenkommen Dr. *L. D. Feltons* ist es uns möglich geworden, das interfaziale Verhalten der Antipneumokokkenglobuline mit dem interfazialen Verhalten von sensitizierten Bakterien zu vergleichen.

Je eine Probe der Typen I, II und III von in Wasser unlöslichem Pferdeserumprotein, das im Tierversuch eine Schutzwirkung hat und die übrigen immunologischen Reaktionen gibt (22), wurde uns von Dr. *Felton* zugesandt. Dieses Material war viermal bei dem isoelektrischen

Punkte des die schützenden Substanzen enthaltenden Proteins gefällt und wiederholt mit Wasser gewaschen worden (22). Nach dem Empfang wurde das Protein in kleinen Aggregatteilchen in destilliertem Wasser suspendiert. Die Teilchen waren von der ungefähren Größe von Bakterien, und die Aggregate zeigten im Dunkelfeld eine große Ähnlichkeit mit kleinen Klumpen von agglutinierten Mikroorganismen.

Diese mit immunen Eigenschaften versehenen Globuline wurden in der Phasengrenze zwischen destilliertem Wasser und Tricaprylin und zwischen Salzlösung und Tricaprylin beobachtet. Die Suspension in Kochsalzlösung wurde durch vorsichtige Zugabe einer 0,8% Kochsalzlösung zum Protein in destilliertem Wasser bereitet, bis die sich daraus ergebende Mischung nur wenig wolkig war. Der größte Teil des Globulins wurde natürlich dabei aufgelöst. Die verbleibenden Aggregate zerstreuten das Licht im Dunkelfeld weniger gut als die Teilchen in destilliertem Wasser. Mit der Phasengrenze in Berührung gebracht, wurden sie schnell in der Grenzfläche verstreut; die dadurch entstandenen Teilchen waren einen Augenblick sichtbar, als sie sich an der Phasengrenze ausbreiteten, bis auch sie dem Auge entschwanden. Wenn ein großes Aggregat von einer sich schnell vorwärts bewegenden Phasengrenze überholt wurde, schleppten sich einige der Proteine bis ins Öl durch, mit geringer lokaler Verzögerung der vorwärts rückenden Phasengrenze.

In der destillierten Wasser—Tricaprylin-Phasengrenze waren die Globulinaggregate im Gleichgewicht. Große, frei schwimmende Aggregate wurden vor dem vordringenden Öl hingetrieben mit nur demjenigen Teil ihrer Oberfläche in der Phasengrenze, der die Grenzfläche berührte. Sehr kleine Aggregate drangen in die Phasengrenze ein und glitten an ihr entlang; aber selbst bei solchen befand sich der größere Teil ihrer Masse mehr im Wasser als im Öl. Kleine, am Glase haftende Klumpen drangen durch die sich vorwärts bewegende Phasengrenze, die dadurch lokal aufgehalten wurde; die die Grenzflächen passierenden Aggregate breiteten sich dabei etwas aus. Kleine Klumpen bildeten weder Halbinseln noch Vakuolen.

Globulinproben wurden durch Erhitzen auf 100° C denaturiert. Die entstandene weiche, geronnene Masse wurde mit Glasstäben zerteilt und die Flocken in der destillierten Wasser—Tricaprylin- und Salz—Tricaprylin-Phasengrenze studiert. Die Kohäsion der Aggregate, ihr Haften am Glase und ihr dem Passieren ins Öl entgegengebrachter Widerstand wurden durch die Denaturierung sichtlich erhöht. Selbst kleine Aggregate hafteten sehr enge am Glase und passierten die Phasengrenze, ohne sich auszubreiten. Sie bildeten aber Halbinseln und Vakuolen. Die mit Globulinen erreichten Resultate sind in Tabelle III zusammengefaßt.

Tabelle III. Interfaziales Verhalten der Globuline mit Immunkörpereigenschaften, verglichen mit dem Verhalten der säurefesten Bakterien.

	Kohäsion von Globulinen	Adhäsion zum Glase	Schwierigkeit beim Übergang von Wasser in die Ölphase	Interfaziales Verhalten der Aggregate	Interfaziale Spannungsverhältnisse (gefolgert aus Beobachtungen)
Natives Globulin in Kochsalzlösung	Gering	Gering	Gering	Aggregate verstreut entlang der Phasengrenze	$T_{sw} < T_{so} + T_{ow}$ $T_{so} < T_{sw} + T_{ow}$
Natives Globulin in destilliertem Wasser	Mäßig	Mäßig	Mäßig	Aggregate bei der Öl—Wasser-Phasengrenze hauptsächlich in Wasser; etwas verstreut während des Passierens der Phasengrenze	$T_{sw} < T_{so}$ $T_{sw} < T_{so} + T_{ow}$ ist mäßig $T_{so} < T_{sw} + T_{ow}$ ist ziemlich klein
Denaturiertes Globulin in Kochsalzlösung oder destilliertem Wasser	Groß	Groß	Groß	Aggregate bei der Öl—Wasser-Phasengrenze beinahe vollständig in der Wasserphase. Keine Verstreuung der Aggregate in der Phasengrenze	$T_{sw} < T_{so}$ $T_{sw} < T_{so} + T_{ow}$ ist groß $T_{so} < T_{sw} + T_{ow}$ nähend zero
Aggregate der nicht sensitizierten säurefesten Bakterien	Sehr gering	—	Spontan benetzt mit Öl	Aggregate verstreut. Bakterien in das Öl geschleudert	$T_{sw} > T_{so} + T_{ow}$
Klumpen der maximal sensitizierten säurefesten Bakterien	Groß	—	Groß	Klumpen in Öl—Wassergrenze hauptsächlich in der Wasserphase. Klumpen nicht verstreut durch die Phasengrenze	$T_{sw} < T_{so}$ $T_{sw} < T_{so} + T_{ow}$ ist groß $T_{so} < T_{sw} + T_{ow}$ ist gering

Das interfaziale Verhalten der denaturierten Globuline in Kochsalzlösung war nicht zu unterscheiden von dem Verhalten der maximal sensitizierten säurefesten Bakterien in Kochsalzlösung.

Unterschiede im Verhalten von denaturierten Globulinteilchen in der Salz—Tricaprylin-Phasengrenze und dem von maximal sensitizierten säurefesten Bakterien in solchen Phasengrenzen haben wir nicht beobachten können. Obwohl die interfaziale Spannungsmethode in gewisser Hinsicht weniger unterscheidend ist als die Kataphorese, so bleibt das Resultat trotzdem nicht ohne Wert, insofern es als Stütze der durch kataphoretische und Präzipitationsversuche erhaltenen Beweise dient: daß maximal sensitizierte Bakterien mit einem Film von denaturiertem Globulin überzogen sind. Es wäre wünschenswert, diese Verallgemeinerung weiter zu prüfen.

Literatur.

1) *J. C. Maxwell*, Capillary Action, in Encyclopaedia Brittanica, Cambridge, 11th edition, **5**, 262, 1910/1911. — 2) *S. Mudd* und *E. B. H. Mudd*, Journ. of exper. Med. **40**, 647, 1924. — 3) *Dieselben*, ebendaselbst **40**, 633, 1924; **43**, 127, 1926. — 4) Neue Deckgläser, 22 × 40 mm, und neue Objektträger sind zu gebrauchen. Die größte Sorgfalt bei der Fertigstellung ist geboten. Die Deckgläser und Objektträger werden zuerst gut mit Wasser und Seife gewaschen, dann in Leitungswasser und destilliertem Wasser gespült. Von dieser Zeit an dürfen sie nur mit reinen, metallenen Zangen behandelt werden. Aus dem destillierten Wasser werden sie in eine reinigende Lösung von Kaliumbichromat enthaltende Schwefelsäure überführt, um sie dort einige Stunden zu lassen. Dann wieder sorgfältiges Ausspülen in Leitungswasser und destilliertem Wasser. Jeder Objektträger und jedes Deckglas werden dann aus einer Flasche mit heißem, destilliertem Wasser in einen Strom von Dampf gehalten. Das kondensierte Wasser wird vom Objekt- oder Deckglas geschüttelt und der letzte Tropfen entfernt, indem man seinen Rand mit reinem Filtrierpapier berührt. Die trockenen Objektträger oder Deckgläser werden in bedeckten Glasbehältern mit Filtrierpapier aufbewahrt und im geschlossenen Schrank behalten, bis man sie braucht. — 5) *W. D. Harkins*, Colloid Symposium Monographs, New York, 1925, **2**, 162: „The greatest of all solubility rules is that like dissolves like, wherein the likeness is that of the electromagnetic stray fields (presumably largely electrical) around the molecules". — 6) Es muß daran erinnert werden, daß das Verhalten des Präparats in gewisser Hinsicht von folgenden Faktoren beeinflußt wird: Die Tiefe des Films, die Schnelligkeit der Vorwärtsbewegung der Phasengrenze; die Größe und die Kohäsion der Versuchsobjekte, und ob sie dem Glase anhaften oder nicht. Ein sehr dünner Film und langsam fortschreitende Phasengrenze sind wünschenswert. Objekte von der Größe einer Bakterie bis zu der einer großen Leucocyte sind gebrauchsfähig. Eine gewisse Übung ist notwendig zu einer gewissenhaften Analyse der Filmpräparate. — 7) *R. R. Mellon*, Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. **23**, 716, 1926. — 8) Journ. of exper. Med. **43**, 127, 1926; auch werden hier Illustrationen von lebenden Bildern der Blutzellen in der Phasengrenze gezeigt. — 9) Für weitere Ausführungen und Illustrationen vgl. Journ. of exper. Med. **40**, 633, 647, 1924. — 10) *A. Mathews*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**, 410, 1897; *R. Burian*, Ergebn. d. Physiol. **5**, 816, 1905; *F. H. A. Marshall*, „The Physiology of Reproduction", 2nd ed., London 1922, S. 311. — 11) Die in den hier angeführten Versuchen ver-

wendeten säurefesten Bakterien wurden auf Glycerinagar gezüchtet. — 12) *A. Calmette, C. Guérin, L. Nègre* und *A. Boquet*, Ann. Institut Pasteur **40**, 89, 1926. — 13) *H. G. Wells, L. M. De Witt* and *E. R. Long*, „The Chemistry of Tuberculosis, Baltimore 1923, S. 3. — 14) *J. Freund*, Amer. Rev. Tuberculosis **12**, 124, 1925. — 15) *H. G. Wells, L. M. De Witt* and *E. R. Long*, opus cit., S. 85 bis 104. — 16) *P. Ehrlich*, Deutsch. med. Wochenschrift **8**, 269, 1882. — 17) *J. Fürth*, Journ. Immunol. **12**, 273, 1926. — 18) *S. Mudd*, Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. **23**, 569, 1926; *S. Mudd* und *E. B. H. Mudd*, Journ. of exper. Med., im Druck. — 19) *S. Mudd* und *E. B. H. Mudd*, Journ. of exper. Med., im Druck. — 20) *L. D. Felton*, Journ. Inf. Dis. **37**, 199, 309, 1925; *L. D. Felton* und *G. H. Bailey*, ebendaselbst **38**, 145, 1926. — 21) *G. S. Shibley*, Journ. of exper. Med. **44**, 667, 1926. — 22) *L. D. Felton*, persönliche Mitteilung.

Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel.

IV. Mitteilung:

Über die Rolle des retikulo-endothelialen Systems im Fett- und Lipoidstoffwechsel.

Von

Samuel Leites.

[Aus dem Laboratorium für pathologische Physiologie des Medizinischen Instituts zu Charkow (Ukraine).]

(Eingegangen am 20. April 1927.)

Mit 11 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Unsere früheren Untersuchungen[1]) zeigten, daß die Elimination des Neutralfettes in den Geweben bzw. Organen und vorerst in der Leber bei der alimentären Lipämie und Lipoidämie aus dem arteriellen Blute von Cholesterin- und Phosphatidsteigerung in dem venösen Blute begleitet wird; andererseits wurde gezeigt, daß die Elimination von Fettsäuren, Cholesterin und Phosphatiden in den Lungen, sowie von Cholesterin in der Milz parallel mit der Neutralfettzunahme verläuft. Diese bestimmten Wechselbeziehungen zwischen Neutralfett und Lipoiden wurden von uns einerseits als Resultat einer möglichen Cholesterin- bzw. Phosphatidbildung aus den Produkten von Neutralfettspaltung — Fettsäuren betrachtet und andererseits als Folge einer möglichen Synthese von Neutralfett aus sowohl exogen eingehenden, als auch sich endogen, in loco bildenden bei Retention und möglichem Zerfall von Cholesterin und Phosphatid-Fettsäuren. Somit wird die Elimination einer Art von Fett-Lipoidsubstanzen in den Organen und Geweben von deren Umwandlung, Metabolie, in eine andere Art begleitet. Mit welchen Zellelementen ist nun dieser Prozeß der Elimination und möglicher Metabolie der Fett-Lipoidsubstanzen verbunden? Eine Reihe von Literaturangaben leitet am allerersten zu der Annahme der Rolle von den Elementen des sogenannten retikulo-endothelialen Systems.

Die Angaben der Literatur berechtigen zu dem Schluß, daß die im Blute reich kreisenden Fette und Lipoide von den Zellen des retikulo-

[1]) *S. Leites*, Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel. I., II., III. Mitteilung, diese Zeitschr. **184**, 273, 300, 310, 1927.

endothelialen (r.-e.) Systems gespeichert werden; diese elektive Ablagerung von Fett und Lipoiden in dem r.-e. System wird durch den physikalisch-chemischen Zustand der letzteren bedingt, insofern, als die Fette im Blute in Form feinster Emulsionen herumkreisen, während die Blutlipoide elektronegative Kolloide darstellen. Jedoch, während die morphologischen Untersuchungen (*Anitschkow*, *Versé*, *Kusunocki*, *W. H. Schulz*, *Oppenheimer* und *Fishberg*, *Lutz*, *Zinserling* u. a.) die Fähigkeit des r.-e. Systems, Fette und Lipoide zu speichern beweisen, bleibt die Frage offen, ob in den Zellen desselben die Verarbeitung, der Metabolismus der gespeicherten Stoffe stattfindet. Diese Frage ist um so mehr wichtig, als unsere diesbezüglichen Untersuchungen[1]) gezeigt haben, daß die exogen eingeführten Lipoide (Cholesterin und Lecithin) (bei Hunden) nicht als solche ins Blut gelangen, und daß die sogenannten exogenen alimentären Lipoidämien als endogene, mit dem Metabolismus des Neutralfettes bzw. der Fettsäuren verbundene erscheinen.

Da nach den Angaben aller Autoren die experimentelle Cholesteatose durch die Einführung von Cholesterin *in Öl* oder von große Phosphatidmengen enthaltenden Eidottern hervorgerufen wird, besteht die Möglichkeit, daß bei der experimentellen alimentären Cholesteatose nicht Cholesterin*ablagerung*, sondern dessen *Bildung* in den r.-e. Elementen aus dem Neutralfett bzw. den Fettsäuren stattfindet, um so mehr, als nach *Chalatow* sowie auch *Versé* die initialen Ablagerungen zunächst isotrop sind. Es ist jedoch möglich, daß die Lungen von Herbivoren und gewisser Omnivoren (z. B. Ratten) Nahrungscholesterin durchlassen, welch letzteres in den r.-e. Elementen abgelagert wird; von Interesse ist die Tatsache, daß bei Hunden, bei welchen, wie wir gezeigt haben, das exogen eingeführte Cholesterin fast total in den Lungen zurückgehalten wird, keine experimentelle alimentäre Cholesteatose hervorgerufen werden konnte (*Kawamura*). Obgleich *Anitschkow*[2]) durch fortdauernde Fütterung mit Cholesterin in Sonnenblumenöl eine Cholesterinämie mit anisotroper Ablagerung in der Leber, den Lymphdrüsen des Mesenteriums, dem Knochenmark und der Nebennierenrinde einer splen- und ovarioektomierten Hündin gelungen ist, haben unsere Untersuchungen (siehe I. und II. Mitteilung) gezeigt, daß dieselbe nicht von dem eingeführten Cholesterin, sondern von der chronischen Einführung des Neutralfettes, in welchem das Cholesterin gelöst ist, abhängen kann.

Die Aufgabe der vorliegenden Untersuchung bestand darin, die Rolle des r.-e. Systems in den Metabolieprozessen von Fett und Lipoiden bei alimentärer Lipo-Lipoidämie aufzuklären.

II. Methodik.

Die einzig mögliche Einwirkungsmethode auf das r.-e. System eines lebendigen, unzergliederten Tierkörpers besteht in der sogenannten Blockade,

[1]) Siehe I., II., III. Mitteilung.
[2]) *N. Anitschkow*, Verh. d. deutsch. pathol. Ges. 1925.

d. h. in der Sättigung der r.-e. Zellelemente mit exogenen, elektronegativen Kolloiden (Silber, Eisen, Farben) oder Suspensionen (Tusche). Die Zusammenfassung der zahlreichen Untersuchungen über den Einfluß der Blockade auf die Funktionen des r.-e. Systems[1]) berechtigt zu folgenden Schlußfolgerungen: die „Blockade" beeinflußt zweifellos die Funktionseigenschaften der r.-e. Elemente; dieser Einfluß findet seinen Ausdruck in der Senkung wie auch in der Steigerung der Funktionen und wird durch den Charakter der eingeführten Substanz, die Dosengröße und die Dauer der Verabreichung, endlich durch den Zustand der r.-e. Zellen selber bestimmt (*Nissen, Lemmel* und *Löwenstedt, Kuczynski, Kusnetzowsky, Börner-Patzelt, Pfeiffer, Standenath, Halbstaedter* und *Wolfsberg, v. Gaza, Schlecht* und *Goldmann* u. a.). Jedenfalls, wie *Paschkis* betont, sprechen die positiven Ergebnisse bei der Blockade für die Teilnahme des r.-e. Systems an der untersuchten Erscheinung, dagegen negative Ergebnisse entweder für eine nicht komplette Blockade oder dafür, daß der r.-e. Apparat an dem Prozeß nicht beteiligt ist.

Die Blockade des r.-e. Systems der Versuchstiere (Hunde) wurde mit intravenös eingeführtem kolloidalen Silber bzw. kolloidalen Eisen (Ferrum saccharat.) bzw. Tusche ausgeführt. Wir benutzten in allen Versuchen immer dasselbe Präparat des kolloidalen Silbers, Solargentum solubile Squibb et Co., das etwa 20% Silber enthält, und die sogenannte Nankintusche. Die Silberintoxikationserscheinungen bei den Hunden (Gewichtsabnahme, Appetitlosigkeit und Durchfall) erschienen erst nach fortdauernder Verabreichung des Solargentums, in welchem Falle auch keine Versuche ausgeführt wurden. Es ist zu bemerken, daß die blockierten Hunde gegen die Narkose äußerst empfindlich sind: die meisten dauernd blockierten Hunde gingen bei nachfolgenden Operationseingriffen durch die Narkose zugrunde. Die mikroskopische Untersuchung der Organe der blockierten Hunde zeigte immer das Vorhandensein von Silber bzw. Eisen bzw. Tusche in den Sternzellen der Leber, in den r.-e. Elementen der Milz und des Knochenmarks; in dieser Hinsicht stimmen unsere Angaben mit den Untersuchungen (an Kaninchen) von *Tschaschin, Pfeiffer* und *Standenath, Nissen, Voigt, Petroff* und anderen, welche gezeigt haben, daß intravenös eingeführtes kolloidales Silber, kolloidales Eisen und Tusche fast ausschließlich in den r.-e. Elementen der von uns erwähnten Organe abgelagert werden. Infolgedessen *wird von uns im weiteren der Begriff des r.-e. Systems im engeren Sinne* (nach *Aschoff*), d. h. *des Leber-, Milz- und Knochenmarkretikulo-endothels gebraucht.* Nach einem bestimmten Blockadegrade (Dosen und Dauer siehe Tabellen) wurden die normalen und splenektomierten Tiere per os mit Olivenöl, Olivenöl + Cholesterin, Oleinsäure und Lecithin belastet, und das Blut auf Fett und Lipoide untersucht. Vor der Blockade des Tieres wurde immer dessen alimentäre Lipo-Lipoidämiekurve festgestellt und die nach der Blockade erhaltenen Angaben mit der Normalkurve für *das gegebene Tier* zusammengestellt; den letzteren Umstand betonen wir dringend, denn die alimentäre Blutfett- und Lipoidsteigerung bei verschiedenen Tieren variiert in ziemlich weiten Grenzen. Die Versuchsanordnung, sowie die Fett- und Lipoidbestimmung (nach *Bang* und *Briggs*) sind dieselben, wie bei den Untersuchungen über alimentäre Lipämie und Lipoidämie (s. Mitteilung I). Es wurden im ganzen 25 Versuche an zwölf Hunden ausgeführt.

[1]) Ausführliches siehe *S. Leites* und *A. Riabow*, „Zur Frage der Blockade des r.-e. Systems". Zeitschr. f. d. ges. exper. Med., im Druck.

III. Einfluß der „Blockade" auf Fett- und Lipoidgehalt des Blutes bei alimentärer Lipo-Lipoidämie normaler und splenektomierter Hunde.

Was die Literaturangaben anbetrifft, so müssen *Beumers* Beobachtungen betont werden, der eine prompte und starke Senkung des Serumcholesterins bei cholesteringespeicherten Kaninchen nach Einführung einer großen Dosis Ferrum saccharat. festgestellt hat; die Untersuchungen von *Rosenthal*, *Moses* und *Petzal* haben gezeigt, daß trotz einer intensiven Blockade (mit Tusche, Eisen und beiden zusammen) einzeitig mit der Reduktion durch Splenektomie des r.-e. Systems der Serumcholesteringehalt fast unverändert verblieb und nur von Zeit zu Zeit Neigung zur Senkung äußerte. *Artom* konnte auch in den Versuchen mit der isolierten Leber keinen bestimmten Einfluß der Blockade auf die Metabolie des Cholesterins feststellen. *Ssokoloff* hat bei Kollargolverabreichung an Hunden eine Serumcholesterinsteigerung bei denselben um 16 bis 19% beobachtet, was sich jedoch in den Grenzen der individuellen physiologischen Schwankungen befindet.

Unsere Versuche mit Solargentumverabreichung haben folgende Ergebnisse geliefert (Tabelle I).

Wie die in der Tabelle I angeführten Angaben (die nicht angeführten zwei Versuche gaben ähnliche Resultate) zeigen, wird der Fett- und Lipoidblutspiegel in dem peripherischen Blute durch die Blockade des r.-e. Systems mit kolloidalem Silber nicht merklich beeinflußt; die dabei beobachteten Veränderungen in dem Fett- und Lipoidgehalt des Blutes überschreiten nicht die Grenzen der physiologischen Schwankungen (s. Mitteilung I); es wird bloß die Neigung zu einer gewissen Cholesterinsteigerung, was mit *Ssokoloffs* Versuchen stimmt, beobachtet. Es muß dabei die Tatsache notiert und betont werden, daß unmittelbar nach der Einführung von kolloidalem Silber (nach 2 bis 10 Minuten) eine Senkung des freien Cholesterins und der Phosphatide (um 30 bis 50%), mit Rückkehr nach 1 bis 2 Stunden zum normalen Niveau, beobachtet wird (Hund Nr. 5 und in einem nicht angeführten Versuch); wie oben erwähnt, ist dieselbe Erscheinung von *Beumer* bei Kaninchen festgestellt.

Der von *Handovsky* sowie von *Marie* festgestellte Zusammenhang zwischen der Stabilität des Cholesterins als einem Kolloidkörper und dessen Verbindung mit bestimmten Eiweißfraktionen berechtigt (*Hueck*) zu dem Schluß, daß der Cholesterinausfall in den Geweben ziemlich von dem Zustande des Kolloidkomplexes, mit welchem das Cholesterin verbunden ist, abhängt. Die Cholesterinsenkung im Blute bei der Einführung des den kolloidalen Blutzustand zweifellos verändernden kolloidalen Silbers wird wahrscheinlich eben dadurch bedingt.

Die Zusammenstellung der Cholesterinsenkung, welche 1½ bis 3 Stunden nach Belastung der Hunde mit mittleren Dosen des Olivenöls (s. Mitteilung I) stattfindet und der Neutralfettsteigerung parallel verläuft einerseits, mit der Blutcholesterinsenkung bei der Einführung von kolloidalem Silber andererseits, stellt ein gewisses Interesse dar. Auch in diesem Falle liegt die Ursache der Blutcholesterinsenkung in der Veränderung des kolloidalen Zustandes des Blutes, welche ihrerseits durch das Auftreten einer großen Neutralfettmenge darin hervorgerufen wird. Daß es wirklich so ist, zeigt der folgende Versuch mit einer intravenösen Einführung von Olivenölemulsion:

Hund Nr. 15a (38), Gewicht 12 kg. 27. November 1926 wurden 5 ccm 5% Emulsion von Olivenöl intravenös eingeführt. Cholesteringehalt

Tabelle I.

Einfluß der Blockade auf den statischen Fett- und Lipoidblutspiegel.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%	Anmerkung
Hund Nr. 5.							
2. I. 1926. Norm . . .	0,057	0,064	0,086	0,150	0,192	6,89	Gew. 7 kg
2. I. 1926 wurden 5 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.							
Nach 10 Minuten . . .	0,063	0,043	0,085	0,128	0,152	5,80	
3., 4., 5., 6., 7. I. 1926 wurden täglich 5 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.							
8. I. 1926 (nach 30 ccm 5% Solargentum) . .	0,062	0,061	0,080	0,141	0,162	6,0	Gew. 7 kg
Hund Nr. 4.							
20. I. 1926. Norm . . .	0,039	0,078	0,066	0,144	0,246	8,00	Gew. 9,2 kg
20., 21., 22., 23. I. 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.							
24. I. 1926 (nach 40 ccm 5% Solargentum) . .	0,068	0,054	0,087	0,141	0,213	7,9	Gew. 9,1 kg
24., 25. I. 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.							
26. I. 1926 (nach 60 ccm 5% Solargentum) . .	0,052	0,093	0,060	0,153	0,213	7,9	Gew. 8,8 kg
26., 28., 30. I. 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.							
1. II. 1926 (nach 90 ccm 5% Solargentum) . .	0,047	0,074	0,062	0,136	0,342	7,8	Gew. 8,2 kg
Hündin Nr. 25 (schwanger).							
19. VIII. 1926. Norm .	0,076	0,064	0,112	0,176	0,228	10,6	Gew. 13,8 kg
Vom 19. VIII. bis 25. VIII. 1926 wurden 25 ccm 5% Solargentum + 5 ccm 5% Tusche eingeführt.							
25. VIII. 1926	0,089	0,052	0,142	0,194		11,7	Gew. 13,5 kg

des peripheren Blutes *vor* der Injektion *0,146*%; *10 Minuten nach* der Injektion *0,080*%.

In unserer früheren Arbeit (Mitteilung I) wurde darauf hingewiesen, daß die Cholesterinsenkung bei der Belastung mit mittleren (7,0 bis 10,0 pro Kilogramm) Dosen von Olivenöl nicht mit der Ausscheidung des Cholesterins durch die Galle verbunden ist, sondern als Folge der Zurückhaltung in den Geweben bzw. Organen erscheint. Wenn diese Cholesterinzurückhaltung, dessen Ausfall, mit der Tätigkeit der r.-e. Elemente in Verbindung steht, so muß deren vorläufige Blockade die Cholesterinsenkung im Blute verhüten. Wie der in der Tabelle II angeführte Versuch zeigt, verhütet in der Tat die Einführung von Solargentum und Tusche die Blutcholesterinsenkung, welche wir gewöhnlich bei der Belastung mit derselben Olivenöldosis bei nicht blockierten Hunden beobachten; der Cholesteringehalt nimmt dagegen zu, wobei diese Steigerung nicht durch eine Hypolipämie begleitet wird.

Tabelle II.

Hund Nr. 17, Gewicht 14,0 kg. Am 22. April 1926, um 10 Uhr morgens, wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt (7,1 pro Kilogramm); 2 Minuten danach wurden 5 ccm 5% Solargentum und 5 ccm 10% Tusche intravenös eingeführt.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%
Präformiert	0,063	0,061	0,083	0,144	0,219	7,7
3 Std. nach der Einführung . .	0,115	0,061	0,075	0,136	0,222	7,4
5 „ „ „ „ . .	0,117	0,109	0,068	0,177	0,201	8,1
7 „ „ „ „ . .	0,098	0,125	0,067	0,192	0,277	7,8

Mit anderen Worten führt die einmalige Blockade des r.-e. Systems den von uns festgestellten (Mitteilung I) ersten Lipämietypus in den zweiten über. Da nun gerade denselben Effekt wie die einmalige Blockade auch die Splenektomie (Tabelle III, Kurve 1) liefert, *so erscheint die Cholesterinsenkung im ersten Lipämietypus als Folge des Ausfalls des Cholesterins, dessen Zurückhaltung durch die r.-e. Milzelemente,* womit also die von uns in der I. Mitteilung cholesterinspeichernde Milzfunktion bestätigt wird.

Zu den Momenten, welche die Cholesterinsenkung sofort nach der intravenösen Einführung von kolloidalem Silber bzw. Olivenöl und auch die Hypocholesterinämie bei dem ersten Lipämietypus hervorruft, muß auch die dabei wahrscheinlich auftretende Veränderung der Milzsperre (*Henning*), welche zum Ausfall des Cholesterins in der Milz beihilft, zugerechnet werden.

Wie von uns in der I. Mitteilung erwähnt wurde, erscheint der Übergang des ersten durch die hypolipämische Phase und abwesende Cholesterinzunahme in der Hyperlipämieperiode gekennzeichneten Lipämietypus in den zweiten Typus, wo der Cholesteringehalt zunimmt, nur bei wiederholter Einführung von mittleren Dosen und einmaliger Einführung von größeren Olivenöldosen. *Dieser Übergang des ersten Typus der alimentären Lipämie in*

Tabelle III.

Hund Nr. 6, Gewicht 11,3 kg.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
23. I. 1926. 10h morgens wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt.				
Präformiert	0,047	0,090	0,062	0,152
Nach 3 Std.	0,114	0,051	0,062	0,113
„ 5 „	0,075	0,057	0,045	0,102
„ 7 „	0,125	0,062	0,034	0,096
26. I. 1926. Splenektomie.				
8. II. 1926. 10h morgens wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt.				
Präformiert	0,055	0,073	0,052	0,125
Nach 3 Std.	0,095	0,059	0,116	0,175
„ 5 „	0,087	0,086	0,103	0,189
„ 7 „	0,061	0,054	0,087	0,141

den zweiten kann somit als Folge der Blockade der r.-e. Systems, insbesondere der milz-r.-e., durch das endogene, infolge der Einführung einer großen Öldosis oder nach vorläufiger Einführung einer mittleren Dosis desselben zunehmende Cholesterin betrachtet werden.

Wenn somit die Elimination des endogenen Cholesterins bei alimentärer Lipocholesterinämie in dem r.-e. System teilweise stattfindet, so tritt die

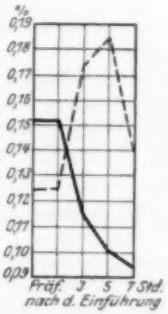


Abb. 1.

Cholesterinblutspiegel beim Hunde Nr. 6 nach Einführung per os 100,0 Ol. olivarum vor (——) und nach (– – –) der Splenektomie.

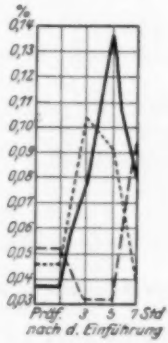


Abb. 2.

Hund Nr. 4. Neutralfettblutspiegel nach Belastung mit 100,0 Ol. olivarum.

—— Vor der Blockade.

– – – Nach Einführung von 60 ccm 5% Solargentum.

····· Nach Einführung von 90 ccm 5% Solargentum.

Frage auf, ob nicht in dem r.-e. Apparat auch Verarbeitungsprozesse der resorbierten Substanzen stattfinden. Insofern als in unseren vorherigen Mitteilungen bewiesen wurde, daß die Zurückhaltung des Neutralfettes in den Geweben bzw. Organen durch die parallele Cholesterinzunahme begleitet wird, und insofern als diese Cholesterinzunahme als Bildung aus dem Neutralfett durch die Fettsäuren betrachtet wurde, erschien die Notwendigkeit, die Rolle des r.-e. Apparats in diesen Wechselbeziehungen zwischen Neutralfett und Cholesterin aufzuklären. In dieser Richtung haben wir Versuche unternommen mit der Belastung der Hunde mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin nach einer fortdauernden Blockade des r.-e. Systems (Tabellen IV, V, VI, VII).

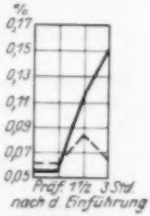


Abb. 3.

Hund Nr. 5. Neutralfettblutspiegel nach Belastung mit 50,0 Ol. olivarum.

—— Vor der Blockade.

– – – Nach Einführung von 35 ccm 5% Solargentum.

Bei der Zusammenstellung des Fett- und Lipoidblutspiegels bei alimentärer Lipo-Lipoidämie vor und nach der Blockade können wir konstatieren:

a) Bei der Belastung mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin ist das Aufsteigen des Neutralfettes viel geringer, als vor der Blockade ausgedrückt, wobei eine scharf ausgedrückte hypolipämische Phase (Abb. 2, 3) bei dem bestimmten Blockadegrade stattfindet; es muß jedoch betont werden, daß dieses Phänomen nicht immer und nicht bei allen Tieren beobachtet wird. Auch die Be-

Tabelle IV.

Lipämie und Lipoidämie bei „blockierten" Hunden nach Belastung mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%
Hund Nr. 4, Gewicht 9 kg.						
13. I. 1926. 10^h morgens wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt.						
Präformiert *)	0,038	0,075	0,030	0,105	0,207	7,6
3 Std. nach der Einführ. .	0,076	0,098	0,055	0,153	0,279	8,6
5 „ „ „ „ .	0,134	0,079	0,092	0,171	0,219	8,0
7 „ „ „ „ .	0,081	0,085	0,062	0,147	0,207	7,8
20., 21., 22., 23., 25. I. 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.						
26. I. 1926 wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt; nach 5 Min. 10 ccm 5% Solargentum intravenös.						
Präformiert	0,052	0,093	0,060	0,153	0,213	7,9
3 Std. nach der Einführ. .	0,025	0,093	0,115	0,208	0,228	7,0
5 „ „ „ „ .	0,031	0,051	0,109	0,160	0,201	7,76
7 „ „ „ „ .	0,090	0,024	0,084	0,110	0,381	7,9
28., 30. I. 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.						
1. II. 1926. 10^h morgens wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt; nach 5 Min. 10 ccm 5% Solargentum intravenös.						
Präformiert	0,047	0,074	0,062	0,136	0,342	7,87
3 Std. nach der Einführ. .	0,103	0,012	0,092	0,104	0,330	7,24
5 „ „ „ „ .	0,094	0,009	0,114	0,123	0,205	
7 „ „ „ „ .	0,039	0,087	0,078	0,165	0,174	6,14
Hund Nr. 7, Gewicht 9 kg.						
3. III. 1926. $9^h50'$ morgens wurden per os 5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivarum eingeführt.						
Präformiert	0,048	0,053	0,065	0,118	0,360	11,5
3 Std. nach der Einführ. .	0,072	0,110	0,101	0,211	0,366	
5 „ „ „ „ .	0,160	0,036	0,093	0,129	0,222	
7 „ „ „ „ .	0,138	0,040	0,060	0,100	0,456	12,5
24 „ „ „ „ .	0,093	0,133	0,151	0,284	0,225	13,8
5., 6., 8. III. 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.						
10. III. 1916. $9^h40'$ wurden per os 5 g Cholesterin + Ol. olivarum eingeführt; nach 5 Min. 10,0 5% Solargentum intravenös.						
Präformiert	0,096	0,060	0,093	0,153	0,309	7,24
3 Std. nach der Einführ. .	0,159	0,110	0,126	0,236	0.270	
5 „ „ „ „ .	0,150	0,120	0,144	0,264		12.14
7 „ „ „ „ .	0,149	0,119	0,088	0,207	0,519	12,31
24 „ „ „ „ .	0,093	0,034	0,182	0,216		13,31

*) Am Tage vorher wurden 100,0 Ol. olivarum eingeführt; dadurch wird der zweite Lipämietypus bedingt.

Tabelle V.

Lipämie und Lipoidämie bei „blockierten" Hunden nach Belastung mit Oleinsäure und Lecithin.

Hund Nr. 7, Gewicht 9 kg.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%
22. II. 1926. 10h20′ wurden per os 50,0 Acidi oleinici (*Kahlbaum*) eingeführt.						
Präformiert	0,067	0,068	0,046	0,114	0,387	6,68
3 Std. nach der Einführ. .	0,063	0,091	0,075	0,166	0,306	7,0
5 „ „ „ „ .	0,071	0,089	0,039	0,128	0,547	10,0
7 „ „ „ „ .	0,120	0,059	0,056	0,117	0,387	11,1
5. III. 1926. 9h20′ wurden per os 50,0 Acidi oleinici (*Kahlbaum*) eingeführt; nach 5 Min. 10 ccm 5% Solargentum intravenös.						
Präformiert	0,084	0,052	0,056	0,108	0,264	6,0
3 Std. nach der Einführ. .	0,100	0,028	0,080	0,108	0,411	8,9
5 „ „ „ „ .	0,100	0,046	0,082	0,128	0,360	9,0
7 „ „ „ „ .	0,083	0,083	0,056	0,139	0,387	9,1
25. II. 1926. 9h50′ wurden per os 20,0 Lecithin (Gehe u. S.) eingeführt.						
Präformiert	0,071	0,046	0,058	0,104	0,255	7,0
3 Std. nach der Einführ. .	0,098	0,047	0,077	0,124	0,360	7,73
5 „ „ „ „ .	0,123	0,065	0,071	0,136	0,270	7,93
7 „ „ „ „ .	0,083	0,113	0,117	0,230	0,417	9,35
5. und 6. III. 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.						
7. III. 1926. 10h wurden per os 20,0 Lecithin (Gehe u. S.) eingeführt; nach 5 Min. 10 ccm 5% Solargentum intravenös.						
Präformiert	0,064	0,026	0,097	0,123	0,300	8,41
3 Std. nach der Einführ. .	0,113	0,016	0,118	0,134		8,62
5 „ „ „ „ .	0,080	0,074	0,097	0,171	0,300	8,77
7 „ „ „ „ .	0,104	0,069	0,128	0,197	0,291	8,25
24 „ „ „ „ .	0,064	0,031	0,097	0,128	0,387	7,83

lastung mit Oleinsäure und Lecithin nach der Blockade führt zu einer geringeren Steigerung des Neutralfettes als vor der Blockade, was am deutlichsten bei den Tieren mit mittels Splenektomie reduziertem r.-e. System beobachtet wird (Tabelle VI, Abb. 4, 5, 6, 7).

b) Die lipogenetische alimentäre Cholesterinämie, welche bei der Belastung mit Olivenöl, Oleinsäure und Lecithin beobachtet wird, ist nach der Blockade viel geringer als vor derselben (Tabelle VI, VII, Abb. 8, 9) ausgedrückt.

c) Nach der Blockade ist die lipogenetische alimentäre Phosphatidämie in den meisten Fällen weniger als vor der Blockade (Abb. 10, 11) ausgedrückt.

Die dauernde „Blockierung" des r.-e. Systems ändert somit, wie wir gesehen haben, den Verlauf der alimentären Lipo-Lipoidämie bedeutend, ohne den statischen Fett- und Lipoidblutspiegel merklich zu beeinflussen. Der bestimmte Einfluß der Blockade auf die genannten Prozesse kann nur durch die Belastungsmethode festgestellt werden, da bei der letzteren

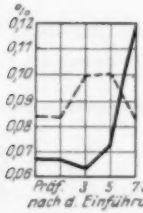


Abb. 4.
Hund Nr. 7. Neutralfettblutspiegel nach Belastung mit 50,0 Oleinsäure.
—— Vor der Blockade.
– – – Nach Einführung von 10 ccm 5% Solargentum.

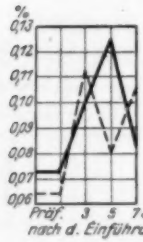


Abb. 5.
Neutralfettblutspiegel nach Belastung mit 20,0 Lecithin (Hund Nr. 7).
—— Vor der Blockade.
– – – Nach Einführung von 30 ccm 5% Solargentum.

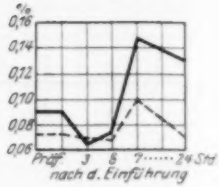


Abb. 6.
Neutralfettblutspiegel bei splenektomiertem Hunde Nr. 8 nach Belastung mit 20,0 Lecithin.
—— Vor der Blockade.
– – – Nach Einführung von 5 ccm 5% Solargentum.

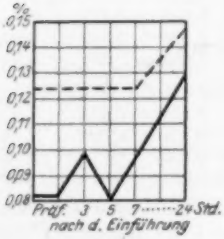


Abb. 7.
Neutralfettblutspiegel bei splenektomiertem Hunde Nr. 8 nach Belastung mit 20,0 Lecithin.
—— Vor der Blockade.
– – – Nach der Blockade (10 ccm 5% Solargentum + 10 ccm 10% Tusche).

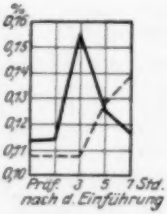


Abb. 8.
Cholesterinblutspiegel nach Belastung mit 50,0 Oleinsäure.
—— Vor der Blockade.
– – – Nach der Blockade (10 ccm 5% Solargentum).

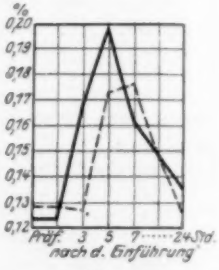


Abb. 9.
Cholesterinblutspiegel bei splenektomiertem Hunde Nr. 1 nach Belastung mit 40,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Blockade.
– – – Nach der Blockade (35 ccm 5% Solargentum).

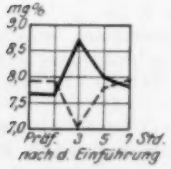


Abb. 10.
Lipoidphosphorblutspiegel beim Hunde Nr. 4 nach Belastung mit 100,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Blockade.
– – – Nach der Blockade (60 ccm 5% Solargentum).

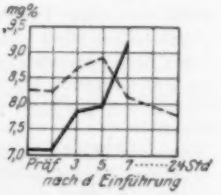


Abb. 11.
Lipoidphosphorblutspiegel beim Hunde Nr. 7 nach Belastung mit 20,0 Lecithin.
—— Vor der Blockade.
– – – Nach der Blockade (30 ccm 5% Solargentum).

Tabelle VI.

Alimentäre Lipämie und Lipoidämie bei splenektomierten und blokierten Hunden.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Hund Nr. 8, Gewicht 14,2 kg. 25. II. 1926. Splenektomie. 15. III. 1926 wurden per os 50,0 Acidi oleinici (*Kahlbaum*) + 10,0 Glycerin eingeführt.				
Präformiert	0,089	0,091	0,047	0,138
3 Std. nach der Einführung	0,066	0,101	0,107	0,208
5 „ „ „ „	0,075	0,128	0,054	0,182
7 „ „ „ „	0,147	0,030	0,108	0,138
24 „ „ „ „	0,130	0,035	0,075	0,110
3. IV. 1926 wurden per os 50,0 Acidi oleinici (*Kahlbaum*) eingeführt; nach 5 Min. 5 ccm 5% Solargentum und 5 ccm 10% Tusche intravenös.				
Präformiert	0,075	0,093	0,070	0,163
3 Std. nach der Einführung	0,073	0,083	0,086	0,169
5 „ „ „ „	0,073	0,083	0,114	0,197
7 „ „ „ „	0,098	0,065	0,070	0,135
24 „ „ „ „	0,070	0,080	0,100	0,180

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Hund Nr. 8, Gewicht 14,2 kg. 25. II. 1926. Splenektomie. 17. III. 1926 wurden per os 20,0 Lecithin (Gehe u. S.) eingeführt.				
Präformiert	0,080	0,090	0,080	0,170
3 Std. nach der Einführung	0,098	0,073	0,105	0,178
5 „ „ „ „	0,071	0,054	0,105	0,159
7 „ „ „ „	0,094	0,051	0,098	0,149
24 „ „ „ „	0,130	0,037	0,177	0,214
3. und 5. IV. 1926 wurden täglich 5 ccm 5% Solargentum und 5 ccm 10% Tusche intravenös eingeführt. 5. IV. 1926 wurden per os 20,0 Lecithin (Gehe u. S.) eingeführt.				
Präformiert	0,124	0,063	0,114	0,177
3 Std. nach der Einführung	0,124	0,070	0,120	0,190
5 „ „ „ „	0,123	0,057	0,136	0,193
7 „ „ „ „	0,124	0,085	0,062	0,147
24 „ „ „ „	0,148	0,044	0,065	0,109

Tabelle VI (Fortsetzung).

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Hund Nr. 8, Gewicht 14,2 kg.				
25. II. 1926. Splenektomie.				
19. III. 1926 wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt.				
Präformiert	0,073	0,086	0,080	0,166
3 Std. nach der Einführung	0,145	0,101	0,126	0,227
5 „ „ „ „	0,168	0,062	0,131	0,193
7 „ „ „ „	0,178	0,092	0,116	0,208
24 „ „ „ „	0,105	0,050	0,101	0,151
3., 5., 8., 9. IV. 1926 wurden täglich 5 ccm 5% Solargentum und 5 ccm 10% Tusche intravenös eingeführt.				
9. IV. 1926 wurden per os 100,0 Ol. olivarum eingeführt.				
Präformiert	0,147	0,090	0,114	0,204
3 Std. nach der Einführung	0,136	0,087	0,117	0,204
5 „ „ „ „	0,257	0,092	0,085	0,179
7 „ „ „ „	0,370	0,092	0,100	0,192
24 „ „ „ „	0,124	0,042	0,122	0,164

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Hund Nr. 1, Gewicht 7,5 kg.				
2. VI. 1925. Splenektomie.				
27. XI. 1925 wurden per os 40,0 Ol. olivarum eingeführt.				
Präformiert	0,090	0,065	0,058	0,123
$1^1/_2$ Std. nach der Einführung	0,097	0,104	0,061	0,165
3 „ „ „ „	0,163	0,104	0,094	0,198
5 „ „ „ „	0,214	0,086	0,075	0,161
24 „ „ „ „	0,078	0,045	0,091	0,136
21., 22., 23., 24., 25., 26., 27. I. 1926 wurden täglich 5 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.				
27. I. 1926 wurden per os 40,0 Ol. olivarum eingeführt.				
Präformiert	0,050	0,061	0,068	0,129
$1^1/_2$ Std. nach der Einführung	0,066	0,065	0,062	0,127
3 „ „ „ „	0,175	0,085	0,088	0,173
5 „ „ „ „	0,225	0,091	0,088	0,179
24 „ „ „ „	0,234	0,081	0,045	0,126

Tabelle VII.

Alimentäre Lipämie und Lipoidämie vor und nach der Blockade.

Nr. des Hundes	Art der Belastung	Maximale Steigerung des Neutralfetts		Maximale Steigerung des Cholesterins		Menge des eingeführten Silbers und Tusche
		vor der Blockade auf %	nach der Blockade auf %	vor der Blockade auf %	nach der Blockade auf %	
4	100,0 Ol. olivarum	252	73	62,8	35,9	60 ccm 5% Solargentum
4	100,0 „ „	252	119	62,8	21,3	90 „ 5% „
7	5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivar.	233	65,6	140,0	72,5	40 „ 5% „
7	50,0 Acidi oleinici	79	19	45,6	28,7	10 „ 5% „
7	20,0 Lecithin	73,2	73,4	121,1	60,1	30 „ 5% „
8 (Splenektomiert)	100,0 Ol. olivarum	143,8	151,7	36,7	0	20 „ 5% Solargentum + 20 ccm 10% Tusche
8 (Splenektomiert)	50,0 Acidi oleinici + 10,0 Glycerin	65,1	30,6	50,7	27,0	5 ccm 5% Solargentum + 5 ccm 10% Tusche
8 (Splenektomiert)	20,0 Lecithin	72,5	19,2	25,9	9,0	10 ccm 5% Solargentum + 10 ccm 10% Tusche
1 (Splenektomiert)	40,0 Ol. olivarum	137	368	60,9	38,7	35 ccm 5% Solargentum
6 (Splenektomiert)	100,0 Ol. olivarum	72,7	26,1	56,8	29,3	10 „ 5% „

gesteigerte funktionelle Aktivität der mit Resorptions-, Eliminations- und Fett-Lipoidmetabolieprozessen verbundenen Elemente auftritt und hervorgerufen werden kann.

Die abgenommene Steigerung des Neutralfettes und Cholesterins bei der alimentären Lipo-Lipoidämie nach der Blockade kann als Folge entweder einer ungenügenden Resorption aus dem Darm, oder einer verstärkten Elimination aus dem Blute, oder, endlich, einer Resyntheseabnahme des Neutralfettes bzw. Cholesterinbildungsabnahme erscheinen. Was nun die „Angewöhnungserscheinung" als Ursache der reduzierten Lipo-Lipoidämie nach der Blockade betrifft, so wird dieselbe, insofern als in unserer I. Mitteilung die Abwesenheit derselben gezeigt wurde, abgelehnt.

Was nun das Neutralfett anbetrifft, kann der Einfluß des eingeführten kolloidalen Silbers auf die Resorptionsfähigkeit des Darmepithels gegenüber dem Neutralfett bzw. den Fettsäuren eins von den wichtigen Momenten darstellen, die die reduzierte Lipämie bedingt. Schon die Tatsache, daß nach der Blockade sowie auch in der Norm das Maximum der Neutralfettsteigerung 3 Stunden nach dessen Einführung auftritt, weiter die Tatsache, daß bei splenektomiertem Tiere trotz der Blockade die Neutralfettzunahme höher als vor der Blockade ist, weist auf die ungestörte Resorption aus dem Darm hin. Das oben Gesagte wird durch die bei der Untersuchung von Fett-Lipoidverteilung im arteriellen Blute und Venenblute der inneren Organe erhaltenen Angaben bestätigt, wobei die letzteren eine nähere Aufklärung der Ursachen der reduzierten alimentären Lipo-Lipoidämie nach der Blockade erleichtern.

Wie die Versuche, die in Tabellen VIII und IX angeführt sind, zeigen, werden weder die Cholesterinresorption noch die der Fettsäuren (Seifen) aus dem Darm nach der Blockade gestört; ähnlich, wie bei normalen Tieren (s. Mitteilung I, II, III), haben wir einen gegenüber anderen Venen gesteigerten Gehalt der Fettsäuren in dem rechten Vorhof (eine hohe Zunahme der nach *Bang* Phosphatide + Seifen enthaltenden „Phosphatidfraktion", bei unverändertem Lipoidphosphorgehalt), sowie auch des Cholesterins, wobei laut Tabelle IX eine partielle Resorption desselben in der Vena porta stattfindet.

In der I. Mitteilung wurde von uns gezeigt, daß die maximale Neutralfettsteigerung in der Vena lienalis beobachtet wird, und zwar in der Weise, daß diese Steigerung mit der Cholesterinabnahme, mit deren Zurückhaltung in der Milz parallel verläuft; es wurde auch darauf hingewiesen, daß die genannte Neutralfettzunahme als Folge der möglichen Bildung aus Cholesterin in der Milz betrachtet werden kann. In dem Versuch mit der Blockade (Tabelle VIII) ist der Neutralfettgehalt in V. lienalis nicht ähnlich wie in der Norm gegenüber der Arterie gesteigert; durch die weitere Blockierung der r.-e. Elemente wird deren Neutralfettspeicherungsfähigkeit eingebüßt. Die histochemische Untersuchung der Milz 5 Stunden nach der Belastung mit Olivenöl ergab einen viel größeren Fettgehalt im Retikulo-Endothel der blockierten Milz (Färbung mit Osmium und Scharlachrot) als bei blockierungsloser Belastung.

Es wurde oben gezeigt, daß die Cholesterinresorption aus dem Darm nach der Blockade nicht gestört wird; laut der vorhergehenden Untersuchungen (Mitteilung I, II, III) bestimmt das exogen eingeführte Cholesterin bei der alimentären Lipo-Lipoidämie die Cholesterinämie nicht, indem das Cholesterin in seinem meisten Maße in den Lungen zurückgehalten wird;

Tabelle VIII[1]).

Hund Nr. 20, Gewicht 12,3 kg. Am 11., 12., 13. Mai 1926 wurden täglich 10 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt. Am 13. Mai 1926, 10 Uhr morgens, wurden per os 5 g Cholesterin in 100,0 Ol. olivarum eingeführt.

2h30′ 5 ccm 2% Morph. sulf. subkutan.
2 50 Ätbernarkose.
3 00 Laparotomie.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatidfraktion" %	Lipoider P mg-%
Peripheres Blut *vor* der Einführung (9h50′)	0,106 (0,52)	0,055 (0,18)	0,070 (0,22)	0,125 (0,40)		
5 Std. nach der Einführung (3h—3h15′):						
6. Peripheres Blut (Ohr) . .	0,073 (0,23)	0,083 (0,27)	0,087 (0,27)	0,170 (0,54)		
1. Arteria femoralis	0,138 (0,44)	0,053 (0,17)	0,102 (0,32)	0,155 (0,49)	0,232 (0,73)	7,8
2. Vena femoralis	0,127 (0,39)	0,043 (0,15)	0,098 (0,30)	0,141 (0,45)		
3. Vena lienalis	0,104 (0,33)	0,087 (0,29)	0,057 (0,18)	0,144 (0,47)		8,0
4. Vena porta	0,107 (0,34)	0,075 (0,25)	0,076 (0,24)	0,151 (0,49)		
5. Vena hepatica	0,072 (0,23)	0,099 (0,30)	0,038 (0,12)	0,137 (0,42)	0,255 (0,81)	
7. Rechter Vorhof	0,078 (0,25)	0,127 (0,43)	0,038 (0,12)	0,165 (0,65)	0,504 (1,74)	8,0

Anmerkung 1. Chylusgefäße gefüllt, milchweiß.

Anmerkung 2. Die Zahlen in Klammern zeigen die Fett- und Lipoidmenge auf festen Rückstand ausgerechnet.

die alimentäre Cholesterinämie ist endogenen Ursprungs und mit der Neutralfett- bzw. Fettsäurenmetabolie in den Geweben bzw. Organen verbunden: der Cholesteringehalt steigt in den V. hepatica und femoralis einzeitig mit Neutralfett- bzw. Fettsäurensenkung. Auf Grund der Angaben in den Tabellen VIII und IX kann festgestellt werden, *daß nach der „Blockierung" der Cholesteringehalt in der V. hepatica und femoralis nicht größer* (wie normal) *als in dem arteriellen Blute, sondern geringer ist.* Insofern, als mit dem Versuch in Tabelle VIII stimmend, die Cholesterinabnahme parallel mit der Neutralfettverminderung verläuft, kann dieselbe sowohl von der gesteigerten Cholesterinabsorption der r.-e. Elemente von Leber und Knochenmark, als auch, möglichst, von der gestörten Cholesterin-

[1]) Die Versuchsanordnung (Tabelle VIII und IX) ähnlich der in der Mitteilung I.

Tabelle IX.

Hund Nr. 25, Gewicht 13,8 kg. Im Laufe von 6 Tagen wurden 35 ccm 5% Solargentum und 5 ccm 5% Tusche intravenös eingeführt. Am 25. August 1926, 10 Uhr morgens, wurden per os 5 g Cholesterin in 100,0 Ol. olivarum eingeführt.

2h35′ 5 ccm 2% Morph. sulf. subkutan.
2 50 Äthernarkose.
3 00 Laparotomie.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Peripheres Blut *vor* der Einführung (9h45′)	0,089	0,052	0,142	0,194
5 Std. *nach* der Einführung (3h—3h10′):				
1. Arteria lienalis	0,132	0,121	1,105	0,226
2. Vena lienalis	0,160	0,068	0,153	0,221
3. Vena femoralis	0,167	0,050	0,124	0,174
4. Vena porta	0,141	0,115	0,132	0,247
5. Vena hepatica	0,100	0,053	0,116	0,169
6. Peripheres Blut (Ohr)	0,145	0,070	0,140	0,210

Anmerkung. Chylusgefäße gefüllt, milchweiß.

bildung aus Neutralfett bzw. Fettsäuren abhängen. Diese Tatsachen können die reduzierte alimentäre Cholesterinämie nach der Blockade erklären. In dem Versuch mit der Blockade (Tabelle IX) ist umgekehrt der Neutralfettgehalt in der Vena lienalis und femoralis erhöht, und gleichzeitig damit nimmt auch dessen Gehalt im peripheren Blute zu. *Die postblockade reduzierte alimentäre Lipämie kann somit als eine Folge der gesteigerten Abfangsfunktion der r.-e. Elemente, insbesondere der Milz,* möglicherweise auch der Bildungsstörung darin von Neutralfett, *durch den bestimmten Blockadegrad hervorgerufen, betrachtet werden. Bei weiterer „Blockierung" nimmt die Neutralfettspeicherungsfähigkeit der r.-e. Elemente der Milz und des Knochenmarks (Vena femoralis) ab, und es tritt dann eine ausgeprägte alimentäre Hyperlipämie auf.* Dieses Phänomen tritt am deutlichsten bei Tieren mit durch Splenektomie reduziertem r.-e. System auf: laut den Angaben der Tabelle VII nimmt der Lipämiegrad bei der schwachen Blockierung (ein- oder zweimalige Solargentum- bzw. Tuscheeinführung, Hund Nr. 8 und 6) stark ab, während eine hochgetriebene Blockierung ein höheres Neutralfettaufsteigen (Hunde Nr. 8 und 1) bei Olivenölbelastung als in der Norm zur Folge hat. Die „Blockierung" des r.-e. Systems kann somit, je nach der Blockierungsintensität und dem individuellen Zustande der r.-e. Elemente, verschiedenen Effekt hinsichtlich des Neutralfettblutspiegels liefern: der leichte Blockierungsgrad hat eine verstärkte Neutralfettspeicherung in den r.-e. Elementen zur Folge, indem dabei in den letzteren Reizungs-

Tabelle X.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Hund Nr. 21.				
15. V. 1926. Norm (periph. Blut)	0,059	0,073	0,056	0,129
15. V. 1926. Splenektomie				
3. VI. 1926. (Peripheres Blut) .	0,145	0,082	0,212	0,294
Im Laufe von 5 Tagen wurden 25 ccm 5% Solargentum intravenös eingeführt.				
8. VI. 1926. (Peripheres Blut) .	0,125	0,049	0,071	0,120
Hund Nr. 20a.				
9. II. 1927. Splenektomie				
25. II. 1927. Rechter Ventrikel*)	0,031	0,077	0,117	0,194
Arteria femoralis .	0,037	0,063	0,048	0,111
Vena femoralis . .	0,045	0,063	0,042	0,105
Im Laufe von 6 Tagen wurden 60 ccm 30% Ferri oxydati saccharati intravenös eingeführt.				
4. III. 1927. Rechter Ventrikel .	0,083	0,012	0,088	0,100
Arteria femoralis .	0,076	0,028	0,067	0,095
Vena femoralis . .	0,080	0,007	0,046	0,053

*) Die Blutentnahme wurde ohne Narkose ausgeführt; das Blut aus dem rechten Ventrikel wurde durch einen Stich in den dritten Rippenzwischenraum mittels einer langen dünnen Nadel erhalten.

erscheinungen auftreten; die Tatsache bedingt, daß in den Fällen von Hypercholesterinämie nach Splenektomie, die „Blockierung" erniedrigt das Cholesterinniveau des Blutes, indem dasselbe zur Norm zurückkehrt (Tabelle X).

Wie die Versuchsangaben in der Tabelle IX, sowie auch diejenigen mit dem Hunde Nr. 20a in Tabelle X zeigen, tritt bei hochgetriebener „Blockierung" gleichzeitig mit der Cholesterinabnahme in V. femoralis im Vergleich zum arteriellen Blute eine Zunahme von Neutralfett auf; die hochgetriebene „Blockierung" liefert somit in der V. femoralis Verhältnisse zwischen Neutralfett und Cholesterin, die bezüglich der Norm umgekehrt sind. Gleichzeitig nimmt bei der hochgetriebenen „Blockade" der Neutralfettgehalt in der V. lienalis (Tabelle IX) zu; diese Neutralfettzunahme in der V. lienalis, welche in der Norm der Cholesterinabnahme parallel verläuft, kann, worauf in der Mitteilung I hingewiesen wurde, als Folge der möglichen Neutralfettbildung aus dem in der Milz zurückgehaltenen und zerfallenen Cholesterin betrachtet werden. Auf Grund des Gesagten kann die bei der hochgetriebenen „Blockierung" konstatierte Neutralfettzunahme mit paralleler Cholesterinabnahme in der Vena femoralis als ein möglicher Übergang des von den r.-e. Elementen des Knochenmarks absorbierten Cholesterins in das Neutralfett gedeutet werden; dafür spricht auch der folgende Versuch mit intravenöser Einführung der kolloidalen Lösung von Cholesterin:

Hund Nr. 20a, Gewicht 12 kg. Am 9. Februar 1927 Splenektomie. Am 25. Februar 1927 wurden 10 ccm 4,5% kolloidaler Lösung (nach *Keeser*) von Cholesterin in V. jugularis eingeführt.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Vor der Einführung:				
Arteria femoralis	0,037	0,063	0,048	0,111
Vena femoralis	0,045	0,063	0,042	0,105
5 Min. nach der Einführung:				
Arteria femoralis	0,052	0,071	0,061	0,132
Vena femoralis	0,039	0,084	0,071	0,155

Am 25. Februar 1927, im Laufe von 6 Tagen, wurden 60 ccm 30% Ferri oxydati saccharati intravenös eingeführt. Am 4. März 1927 wurden 10 ccm 4,5% kolloidaler Lösung von Cholesterin in V. jugularis eingeführt.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Vor der Einführung:				
Arteria femoralis	0,076	0,028	0,067	0,095
Vena femoralis	0,080	0,007	0,046	0,053
5 Min. nach der Einführung:				
Arteria femoralis	0,048	0,063	0,060	0,123
Vena femoralis	0,067	0,040	0,060	0,100

Dieser Versuch zeigt, daß die Cholesterineinführung nach der „Blockierung" eine Neutralfettsteigerung in der Vena femoralis im Vergleich zu der Arterie hervorruft, was vor der Blockade nicht konstatiert wird. *Eine dauernde Einführung von elektronegativen Metallhydrosolen, eine hochgetriebene „Blockierung", welche die Absorptionsfunktion der r.-e. Elemente der Milz und des Knochenmarks in bezug auf Cholesterin erhöht, verstärkt möglicherweise auch deren Funktion hinsichtlich der Metabolie, der Verarbeitung des resorbierten Cholesterins.* Diese Funktionszunahme des r.-e. Systems wird dadurch erklärt, daß die chronische Einführung von elektronegativen Metallhydrosolen Reizerscheinungen, Proliferation seitens der r.-e. Elemente der Leber, der Milz und des Knochenmarks hervorruft, was von *Pfeiffer, Standenath, Nissen, Siegmund, Lämmel* und *Löwenstädt, Weiss* und *Sümegi, Leites* und *Riabow* u. a. gezeigt wurde, und was von uns bei der mikroskopischen Untersuchung der Organe der Versuchshunde konstatiert wurde.

Insofern, als die chronische Einführung von kolloidalen Metallen, eine hochgetriebene „Blockierung", die Funktionszunahme der r.-e. Elemente hervorruft, muß dieselbe auch den Übergangsprozeß des Neutralfettes bzw. der Fettsäuren in Cholesterin beeinflussen, falls der genannte Prozeß mit der Funktion der r.-e. Elemente in Verbindung steht. *Der unten angeführte Versuch zeigt, daß bei der Einführung von Natrium oleinicum nach der chronischen Blockierung die Fettsäuremenge* (Verminderung der nach *Bang* Phosphatide + Seifen enthaltenden „Phosphatidfraktion" bei un-

veränderten Lipoid-P-Gehalt) *in der V. femoralis im Vergleich zu der Arterie stark sinkt und eine parallel verlaufende Cholesteringehaltzunahme auftritt*, was vor der Blockade nicht zur Beobachtung kommt.

Hund Nr. 18a, Gewicht 10 kg. Am 2. Februar 1927 Splenektomie. Vom 13. bis 18. Februar wurden 60 ccm 30% Ferri oxydati saccharati intravenös eingeführt. Am 19. Februar wurden in der V. jugularis 10 ccm 10% Emulsion von Natr. oleinici eingeführt.

	„Phosphatidfraktion" %	Lipoider P mg-%	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	Neutralfett %
20 Min. nach der Einführung:						
Arteria femoralis	0,417	9,2	0,090	0,091	0,181	0,044
Vena femoralis	0,114	9,0	0,099	0,113	0,212	0,047

Das oben Angeführte wird auch durch den folgenden Versuch illustriert:

Hund Nr. 10a, Gewicht 11 kg.

		Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
2. XI. 1926.	Rechter Ventrikel .	0,077	0,065	0,086	0,151
	Arteria femoralis .	0,071	0,020	0,068	0,088
	Vena femoralis . .	0,037	0,067	0,086	0,153
Vom 2. XI. bis 6. XI. wurden 50 ccm 5% Solargentum + 10 ccm 10% Tusche intravenös eingeführt.					
7. XI. 1926.	Rechter Ventrikel .	0,042	0,139	0,075	0,214
	Arteria femoralis .	0,082	0,038	0,079	0,117
	Vena femoralis . .	0,030	0,085	0,100	0,185

Wie aus den Versuchsangaben folgt, tritt nach der hochgetriebenen „Blockierung" eine Steigerung des Cholesterins mit parallel verlaufender Neutralfettsenkung in dem rechten Vorhof auf, wohin das Blut aus der Leber eintritt; auch in der V. femoralis wird die Cholesterinsteigerung beobachtet.

Bei der Zusammenstellung unserer Angaben kann festgestellt werden, *daß die Versuchsergebnisse mit der „Blockierung" des r.-e. Systems zeigen: 1. In dem Prozesse der Neutralfett- und Cholesterinelimination aus dem Blute gehört eine bedeutende Rolle dem Retikulo-Endothel der Milz und des Knochenmarks und 2. eine Veranlassung, daß die Metabolie des Neutralfettes und Cholesterins, deren Ineinanderübergehen mit der Funktion des R.-E. der Leber, der Milz und des Knochenmarks verbunden ist.* Es muß dabei betont werden, daß die R.-E.-Elementenreaktion auf die Einführung der elektronegativen Metallhydrosole, auf die „Blockierung", gegenüber von uns angenommener Fett- und Cholesterinmetabolie als sehr kompliziert und verschiedenartig erscheint; dieselbe hängt

von der Menge der eingeführten Blockierungssubstanzen, von der Dauer der Einführung, von dem individuellen Zustande der r.-e. Elemente ab; bei einer und derselben Blockierungsstufe tritt die Reaktion verschieden gegenüber verschiedenen Substanzen, und zwar gegenüber Neutralfett und Cholesterin, auf. Der Blockadeeinfluß auf die Funktion des r.-e. Systems hinsichtlich der Fett- und Lipoidmetabolie kann in der folgenden — etwas schematischen — Weise dargestellt werden: 1. Die einmalige Blockierung hat Absorptionseigenschaftsabnahme des Milz-R.-E. in bezug auf Cholesterin zur Folge; 2. die schwache Blockierungsstufe dagegen erhöht die Absorptionsfunktion des R.-E. der Milz und des Knochenmarks bezüglich des Neutralfettes, des R.-E. der Leber und des Knochenmarks bezüglich des Cholesterins; es wird dabei wahrscheinlich der Übergang des Cholesterins in das Neutralfett abgenommen haben; 3. die hochgetriebene Blockierung, welche die Absorptionsfunktion des R.-E. des Knochenmarks und der Milz hinsichtlich des Neutralfettes unterdrückt, erhöht ähnlich der schwachstufigen Blockierung die Absorptionsfunktion des R.-E. des Knochenmarks und der Leber hinsichtlich des Cholesterins; es steigert vielleicht dabei die Funktion des R.-E. bezüglich der Metabolieprozesse des Cholesterins, sowohl im Sinne dessen möglicher Verwandlung in Neutralfett, wie auch im Sinne dessen möglicher Bildung aus Neutralfett bzw. höheren Fettsäuren; 4. was die Phosphatide bzw. den Lipoidphosphor anbetrifft, so ist es nicht gelungen, einen bestimmten spezifischen Einfluß der Blockade festzustellen. Durch diese komplizierte Beeinflussung der Blockade auf die Funktionen des r.-e. Systems wird der bei der Blockierung auftretende zusammengesetzte und manchmal bunte Fett- und Lipoidblutspiegel bedingt. Der letztere, welcher die summare und komplizierte Abbildung der verschiedenartigen Rolle des r.-e. Systems in den Prozessen des Fett- und Lipoidstoffwechsels darstellt, kann verschiedenen Charakter besitzen, je nach der Blockierungsstufe, sowie je nach dem Veränderungsgrad dieser oder jener Funktion des r.-e. Systems[1]).

Zusammenfassung.

1. Die intravenöse Einführung des kolloidalen Silbers bzw. kolloidalen Eisens bzw. der Tuschensuspension bzw. Olivenölemulsion ruft bei den Hunden Cholesterinsenkungen im peripheren Blute hervor, welche 1 bis 10 Minuten nach der Einführung auftreten und 2 Stunden nachher zur Norm zurückkehren.

2. Die „Blockade" mit Solargentum, Ferrum oxydatum saccharatum, Tusche ruft Veränderungen im statischen Bilde des Fettes und der Lipoiden des pheripheren Blutes hervor, welche sich in den Grenzen der individuellen physiologischen Schwankungen finden.

3. Die einmalige Blockierung mit Solargentum bzw. Tusche hält die Senkung des freien Cholesterins und das Auftreten der bei der Einführung von mittleren Dosen des Olivenöls beobachteten hypolipämischen Phase zurück und führt somit den in der ersten Mitteilung

[1]) Der Einfluß der Blockade auf das Gallencholesterin bestätigt unsere Angaben. Die Einzelheiten werden in einer der nächsten Mitteilungen veröffentlicht.

beschriebenen ersten Lipämietypus in den zweiten Typus über. Einen ähnlichen Effekt ruft die Splenektomie hervor.

Auf Grund des ersten und dritten Satzes sowie der Schlußfolgerungen der Mitt. I erscheint die Senkung des Blutcholesterins bei dem ersten Lipämietypus als Folge der Cholesterinabsorption in r.-e. Elementen der Milz, welch letztere ihrerseits durch die Veränderung des kolloidalen Blutkomplexes infolge des ins Blut eintretenden Neutralfettes bedingt wird. Der nach wiederholter Einführung von mittleren Dosen des Olivenöls und bei einmaliger Einführung von hohen Dosen beobachtete zweite Lipämietypus (Mitteilung I) wird als Folge der Blockierung der R.-E.-Elemente der Milz mit dem endogen zunehmenden und darin abgelagerten Cholesterin betrachtet.

4. Die Belastung der Hunde per os mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin bzw. Oleinsäure bzw. Lecithin ruft nach vorläufiger Blockade geringere Lipämie und Cholesterinämie als vor der Blockade hervor; bei den Hunden mit durch Splenektomie reduziertem R.-E.-System ruft die hochgetriebene Blockade bei bleibender reduzierter, alimentärer Cholesterinämie eine stärkere Neutralfettsteigerung als vor der Blockade hervor.

5. Die Untersuchung des Fett- und Lipoidgehalts in dem arteriellen und Venenblute bei Belastung per os mit Fett nach der Blockade zeigt, daß bei mittelgradiger Blockierung der Cholesteringehalt in den V. hepatica und femoralis geringer — im Vergleich mit der Norm — als im arteriellen Blute ist, während in der V. lienalis der Neutralfettgehalt geringer als in der Arterie erscheint. Bei hochgradiger Blockierung ist der Neutralfettgehalt in den V. lienalis und femoralis höher als in der Arterie, während der Cholesteringehalt nicht zunimmt.

6. Bei der Hypocholesterinämie nach der Splenektomie erniedrigt die Blockierung das Blutcholesterinniveau.

7. Die intravenöse Einführung von Natrium oleinicum nach vorheriger Blockierung ruft Cholesterinsteigerung in der V. femoralis hervor.

Die Sätze 3, 4, 5, 6, 7 berechtigen zu dem Schlusse, daß das Retikulo-Endothel der Milz, Leber und des Knochenmarks sowie in den Eliminationsprozessen des Neutralfettes und Cholesterins aus dem Blute, als auch wahrscheinlich an deren Metabolieprozessen teilnimmt. Die schwachgradige Blockierung erhöht die Absorptionsfunktion der R.-E.-Elemente der Milz und des Knochenmarks in bezug auf Neutralfett, der Leber und des Knochenmarks bezüglich Cholesterin; bei hochgetriebener Blockade nimmt die Neutralfettabsorption ab, während Cholesterinabsorption gesteigert verbleibt, wobei die Funktion des R.-E. des Knochenmarks und der Milz hinsichtlich möglicher Verwandlung des

Cholesterins in Neutralfett sowie die Funktion der R.-E. der Leber und des Knochenmarks hinsichtlich möglicher Cholesterinbildung aus Fettsäuren zunimmt.

8. Es werden keine bestimmten Veränderungen seitens des Lipoid-P nach der Blockade beobachtet.

9. Die Reaktion des R.-E.-Systems hinsichtlich des Fett- und Lipoidstoffwechsels auf die Blockade hängt von der Menge und Art der eingeführten Blockierungssubstanzen und deren Einführungsdauer als auch von der Individualität der R.-E.-Elemente ab.

Literatur.

Aschoff, Ergebnisse d. inn. Med. u. Kinderh. **1924**. — *Anitschkow* und *Chalatow*, Zentralbl. f. Pathol. **24**, 1913. — *Artom*, Kongrbl. f. inn. Med. **40**, H. 5, 1925. — *Beumer*, Deutsch. med. Wochenschrift 1925, Nr. 6. — *Boerner-Patzel*, *Gödel*, *Standenath*, Das Retikuloendothel. Thieme 1925. — *Chalatow*, „Die anisotrope Verfettung". Jena, Fischer, 1922. — *Elek*, Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 4. — *v. Gaza*, ebendaselbst 1924, Nr. 20. — *Goldmann*, zitiert nach *Aschoff*. — *de Haan*, Pflügers Arch. **201**, 1923. — *Henning*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **54**, 1927. — *Halbstädter* und *Wolfsberg*, ebendaselbst **32**, 1923. — *Hueck*, Verh. d. deutsch. pathol. Ges. 1925. — *Handovsky*, Münch. med. Wochenschr. **22**, 1924. — Klin. Wochenschr. 1924, Nr. 30. — *Kawamura*, Morphologie und Physiologie der Cholesterinsteatose. Jena 1927. — *Klinge* und *Wacker*, Krankheitsf. **1**, 1925. — *Kotake*, *Masdi* und *Mori*, zitiert nach *Aschoff*. — *Kuczynski*, Virchows Arch. **239**, 1922. — *Kunetzowsky*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **44**, 1925. — *Lepehne*, zitiert nach *Aschoff*. — *Lämmel* und *Löwenstedt*, Arch. f. exper. Zellforsch. **3**, H. 1, 1926. — *Leites* und *Riabow*, Wratschebnoje dijelo 1927 (russ.) — *Lutz*, Zieglers Beitr. **58**, 1914. — *Migay* und *Petroff*, Arch. f. mikrosk. Anatomie **97**, 1923. — *Marie*, zitiert nach *Hueck*. — *Nissen*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 40; Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **28**, 1922. — *Oeller*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 49; Münch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 51; Deutsch. med. Wochenschr. 1923, Nr. 41. — *Oppenheimer* und *Fishberg*, Ber. üb. d. gesamte Phys. **33**, 1926. — *Paschkis*, Zeitschr. f. d. ges. exper. Med. **43**, 1924; **49**, 1926. — *Petroff*, ebendaselbst **35**, 1923; **42**, 1924. — *Rosenthal* und *Fischer*, Klin. Wochenschr. **46**, 1922. — *Rosenthal*, *Melchior*, *Licht*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **115**, 1926. — *Rosenthal*, *Moses*, *Petzal*, zitiert nach *Börner-Patzelt*, *Gödel*, *Standenath*; *H. E Schmidt*, zitiert nach *Gödel*. — *Ssokoloff*, Virchows Arch. **245**, 1923. — *Seifert*, Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 48. — *Schulemann*, diese Zeitschr. **80**, 1, 1918. — *W. H. Schulze*, Verh. d. deutsch. pathol. Ges. 1912. — *Schiff*, Jahrb. f. Kinderh. **112**, F. 3, S. 62, 1926. — *Standenath*, Zeitschr. f. Imm. **38**, 1923. — *Tschaschin*, zitiert nach *Petroff*. — *Versé*, Verh. d. deutsch. pathol. Ges. 1925. — *Voigt*, Virchows Arch. **257**, 1925. — *Weiss* und *Sümegi*, Wien. Arch. f. inn. Med. **10**, 1925. — *Zinserling*, Zieglers Beitr. **71**, 1923.

Die hygroskopischen Eigenschaften von Watte und ihres Verkohlungsproduktes.

Von

S. W. Gorbatscheff und E. N. Winogradowa.

(Aus der physikalisch-chemischen Abteilung des Chemo-pharmazeutischen Forschungsinstituts in Moskau.)

(Eingegangen am 26. April 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Es ist bekannt, daß Kohle ein ganz bedeutendes Adsorptionsvermögen besitzt, bezeichnenderweise ist es keinesfalls gleichgültig, durch Verkohlung welcher organischen Substanz die Kohle entstanden ist; Blutkohle und Knochenkohle haben eine ganz verschiedene Adsorptionsaktivität. Die Eigenschaft der Kohle als eines Adsorbens besteht darin, daß verkohlte Substanzen keine spezifische Bindungsfähigkeit mehr besitzen. Wir meinen die elektrische Spezifität, das Vorzeichen des elektrischen Kraftfeldes um den Adsorbenten, was die Anziehung von Teilchen mit nur einem bestimmten Vorzeichen bedingt.

Es ist als sicher anzunehmen, daß Verbandstoffe, welche ja schädliche Ausscheidungen aus Wunden aufsaugen und adsorbieren sollen, mit Vorteil in verkohltem Zustande angewandt werden könnten.

In vorliegender Arbeit haben wir die hygroskopischen Eigenschaften der Watte und eines Verkohlungsprodukts der Watte, welches deren faserige Struktur beibehalten hat, miteinander verglichen.

Unter Hygroskopizität versteht man die Fähigkeit eines Körpers, Wasserdampf aus der Luft zu adsorbieren. Quantitativ wird die Hygroskopizität gemessen durch Bestimmung der Wassermenge (in Grammen), die von einer Mengeneinheit (1 g) Material bei gegebener Temperatur adsorbiert wird, und zwar in einem Zeitintervall, das zum Eintreten des Gleichgewichts zwischen Adsorbens und Medium mit 100% Feuchtigkeit (gesättigte Wasserdampfspannung) genügt.

Die Kinetik der Adsorption in den ersten 24 Stunden wurde auf folgende Weise gemessen: Watte und deren Verkohlungsprodukt, welches wir als „*Granulose*" bezeichnen wollen, wurden durch Erwärmen bis auf 102° und Erkaltenlassen über konzentrierter H_2SO_4 getrocknet. Abgewogene

Mengen von beiden wurden in einen Thermostaten bei 37° C gebracht. Der Luftraum im Thermostaten wurde in mit Wasserdampf gesättigtem Zustande unterhalten. Nach bestimmten Zeitintervallen wurden die Schliffwägegläschen bedeckt, auf Zimmertemperatur abgekühlt und gewogen. Die Gewichtszunahme ergab die adsorbierte Wassermenge. In den Tabellen I und II sind die Resultate der Messungen wiedergegeben.

Tabelle I.

Kinetik der Adsorption von Wasserdampf durch Watte bei 37° C.

Sättigungsdauer Std.	Von 1 g Watte adsorbierte Wassermenge				
	Versuch 1 g	Versuch 2 g	Versuch 3 g	Versuch 4 g	Mittlere g
1	0,0347	0,0340	0,0382	0,0343	0,0353
2½	0,0481	0,0510	0,0498	0,0510	0,0500
5	0,0575	0,0610	0,0590	0,0605	0,0595
7	0,0617	0,0670	0,0635	0,0660	0,0645
10	0,0672	0,0710	0,0728	0,0720	0,0708
15	0,0749	0,0780	0,0817	0,0776	0,0780
24	0,0844	0,0903	0,0906	0,0862	0,0870

Tabelle II.

Kinetik der Adsorption von Wasserdampf durch Granulose bei 37°.

Sättigungsdauer Std.	Von 1 g Granulose adsorbierte Wassermenge				
	Versuch 1 g	Versuch 2 g	Versuch 3 g	Versuch 4 g	Mittlere g
1	0,0304	0,0324	0,0292	0,0330	0,0315
2½	0,0671	0,0604	0,0640	0,0647	0,0641
5	0,0875	0,0880	0,0867	0,0870	0,0873
7	0,1019	0,1005	0,0972	0,0989	0,1005
10	0,1190	0,1202	0,1165	0,1175	0,1183
15	0,1470	0,1500	0,1455	0,1540	0,1491
24	0,1875	0,2024	0,1928	0,1936	0,1941

Die Berechnungen zeigen, daß die Kinetik der Adsorption von Wasserdampf durch Granulose und Watte bedeutend von der Adsorption von Gasen, für die *B. Iliin*[1]) eine theoretische Formel angegeben hat, abweicht.

Weiter wurde die Isotherme der Adsorption von Wasserdampf durch Granulose untersucht. Wägegläschen mit lufttrockener Granulose wurden in Exsikkatoren über Lösungen von H_2SO_4 gebracht und 7 Tage bei 35° C stehengelassen. Als Dampfspannungen wurden die von *Regnault* und *Sorel*[2]) bestimmten genommen. In Tabelle III sind die Messungen zusammengestellt.

[1]) Zeitschr. f. physik. Chem. **107**, 145, 1923.
[2]) *Landolt-Börnstein*, Phys.-chem. Tabellen 1923.

Tabelle III.

Die Isotherme der Adsorption von Wasserdampf durch Granulose bei 35°.

Konzentration der H_2SO_4 %	Dampfspannung mm	Gewicht der Granulose nach der Sättigung g	Von 1 g Granulose adsorb. Wassermenge g
0,94	41,75	2,6930	0,390
0,94	41,75	2,8942	0,491
4,69	41,2	2,7580	0,422
4,69	41,2	2,7330	0,410
18,77	37,25	2,1475	0,117
18,77	37,25	2,1046	0,096
37,54	26,4	1,9885	0,0377
37,54	26,4	1,9835	0,0352
46,93	18,75	1,9880	0,0374
46,93	18,75	1,9816	0,0343
56,32	10,5	1,9410	0,0140
56,32	10,5	1,9500	0,0184
75,09	2,0	1,9165	0,0017
75,09	2,0	1,9127	0,0002
93,86	0,2	1,9095	0,0001
93,86	0,2	1,9168	0,0018

Die angeführten Daten zeigen (Abb. 1, Kurve 1), daß unsere Isotherme denselben ungewöhnlichen Verlauf hat, wie ihn auch andere Forscher im Falle der Adsorption von Wasserdampf beobachtet haben[1]). Die Adsorp-

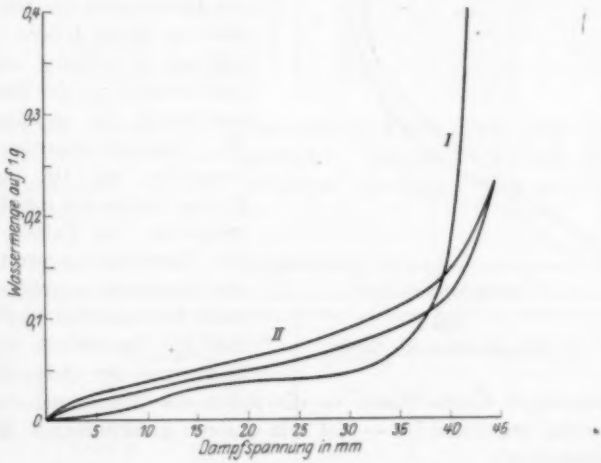


Abb. 1. Adsorptionsisotherme bei 35°.

[1]) *Trouton*, Proc. Roy. Soc. London (A) **79**, 383, 1907; *A. Rakowski*, Zur Kenntnis der Adsorption, Diss. 1913; *P. P. Kosakewitsch*, Kolloid-Zeitschr. **36**, 82, 1925.

tion von Wasserdampf durch Watte wurde untersucht von *A. Rakowski*[1], *Masson* und *Richards*[2]). Wir werden die Angaben von *Rakowski* als die genaueren benutzen. Seine Beobachtungen wurden aber bei 19° C angestellt. Um sie mit den Resultaten unserer Messungen vergleichbar zu machen, müssen wir dieselben auf die Temperatur 35° umrechnen. Dazu läßt sich die Theorie von *M. Polanyi* benutzen[3]). Trotzdem wir mit dieser Theorie in ihrer Gesamtheit nicht einverstanden sind — aus Gründen, die wir hier nicht näher erörtern —, wollen wir trotzdem die von *Polanyi* angegebene Methode zu unserem Zwecke benutzen. Auf Grund der von uns erhaltenen Isotherme für die Adsorption von Wasserdampf durch Granulose bei 35° berechnen wir die sogenannte „charakteristische Adsorptionskurve". Unter dieser Bezeichnung versteht man die Kurve, welche die Abhängigkeit des Adsorptionspotentials von der Entfernung von der Oberfläche des Adsorbenten darstellt. Wenn wir von dieser Kurve ausgehen und mit *M. Polanyi* annehmen, daß dieselbe von der Temperatur unabhängig ist, so können wir die Adsorptionsisotherme der Granulose bei 19° berechnen. Ebenso wollen wir mit der Watte verfahren. In Tabelle IV sind die Umrechnungsresultate für die Granulose angeführt. Spezielle Versuche bei 12,9° zeigten, daß die theoretisch berechnete Isotherme der Adsorption von Wasserdampf durch Watte — die durch die Messungen von *A. W. Rakowsky* begründet ist — gut mit unseren unmittelbaren Messungen übereinstimmt.

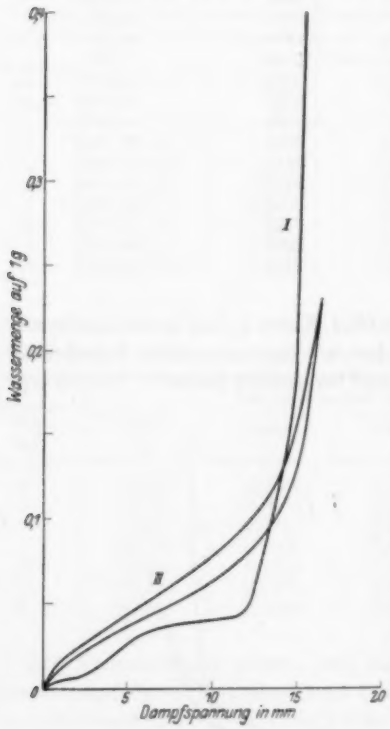


Abb. 2.
Adsorptionsisotherme bei 19°.

[1]) l. c., S. 54 bis 57.
[2]) Proc. Roy. Soc. London (A) **77**, 292, 1906.
[3]) Ber. d. Deutsch. phys. Ges. **16**, 1012, 1914; **18**, 55, 1916; Zeitschr. f. Elektrochem. **26**, 370, 1920.

Tabelle IV.

Die berechnete Isotherme für die Adsorption von Wasserdampf durch Granulose bei 19°.

Dampfspannung mm	Von 1 g Granulose adsorb. Wassermenge g	Dampfspannung mm	Von 1 g Granulose adsorb. Wassermenge g
1,0	0,003 99	12,00	0,0479
2,20	0,006 49	14,00	0,132
3,95	0,020 0	15,00	0,190
5,95	0,032 5	15,319	0,322
7,95	0,037 9	15,408	0,402
9,95	0,040 9		

In Tabelle V sind die Messungsresultate von *A. Rakowski* für die Adsorption von Wasserdampf durch Watte bei 19° in Grammen auf 1 g Watte wiedergegeben.

Tabelle V.

Adsorptionsisotherme von Wasserdampf durch Watte bei 19°.

Dampfspannung mm	Von 1 g Watte adsorbierte Wassermenge g	g	Dampfspannung mm	Von 1 g Watte adsorbierte Wassermenge g	g
1	0,012 25	0,015 64 ↑	9,95	0,064 96	0,079 68 ↑
2,20	0,019 89	0,025 96	12,0	0,080 15	0,098 64
3,95	0,032 205	0,038 31	14,0	0,108 00	0,130 3
5,95	0,042 535	0,052 19	15,0	0,134 4	0,158 2
7,95	↓ 0,052 85	0,065 42	16,4	↓ (0,231 5)	(0,231 5)

Die zwei Reihen von Ziffern und die Pfeile zeigen, daß hier eine Hysteresis der Adsorption stattfindet. Tabelle VI enthält die Umrechnungsresultate für die Isotherme der Adsorption des Wasserdampfes durch Watte bei 35°.

Tabelle VI.

Die berechnete Adsorptionsisotherme von Wasserdampf durch Watte bei 35°.

Dampfspannung mm	Von 1 g Watte adsorbierte Wassermenge g	g	Dampfspannung mm	Von 1 g Watte adsorbierte Wassermenge g	g
2	0,009 941	0,011 93 ↑	30	0,071 08	0,086 98 ↑
10	0,029 42	0,035 49	40	0,121 3	0,143 1
20	↓ 0,049 21	0,060 94	44,5	↓ 0,230 5	0,230 5

In den Abb. 1 und 2 sind die Adsorptionsisothermen der Watte und Granulose nebeneinander gestellt. Mit dem Zeichen I ist die Isotherme der Granulose, mit II die Isotherme der Watte bezeichnet.

Aus den Abbildungen ist zu ersehen, daß bei großer Feuchtigkeit der Luft, d. h. unter den Bedingungen, die beim Gebrauch von Watte und Granulose als Verbandstoffe stattfinden, Granulose ein bedeutend größeres Adsorptionsvermögen besitzt als Watte, oder mit anderen Worten, daß die Hygroskopizität der Granulose bedeutend größer als die Hygroskopizität der Watte ist.

Dieses läßt daran denken, leicht verkohlte Watte als Verbandstoff statt Watte zu gebrauchen. Ein entsprechendes, besonders bearbeitetes Material, die „Granulose", wird seit einiger Zeit klinisch geprüft und scheint sehr ermutigende Resultate zu geben.

Über die biochemischen Zusammenhänge zwischen Körperzustand, Ernährung und Resistenz der roten Blutzellen.

Von

Győző Petrányi.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der königl. ungar. Pázmány-Péter-Universität, Budapest.)

(Eingegangen am 28. April 1927.)

Es gibt wenig solcher Forschungsgebiete, wo die Ergebnisse derart verschieden sind, wie eben auf jenem der Resistenzversuche. Es ist etwas ganz Alltägliches, daß, wenn auch manche Forscher in irgend einer Richtung positive Ergebnisse aufweisen können [z. B. eine R.[1])-Zunahme], andere diese Ergebnisse mit gleichwertigen Experimenten widerlegen oder mit einem negativen Befund unbekräftigt lassen, obzwar man sich mit dieser Frage, seit sie im Jahre 1880 zum erstenmal von *Chanel* (1) aufgeworfen und wenig später von *Hamburger* (2) ihre Versuchsrichtungslinien in einem Werke über osmotischen Druck und R. dargelegt wurden, in unzähligen und erschöpfenden Abhandlungen befaßte.

Doch alle Bestrebungen waren zumeist unfruchtbar, um einheitliche Befunde zu erzielen, und die verschiedenen Ergebnisse hoffte man mit methodischen Verbesserungen zu umgehen, ohne aber wieder zu Resultaten zu kommen, da man trotz allen Umsehens sehr wichtige und unerläßliche physiologische Faktoren außer acht ließ.

Mit der Würdigung der verschiedenen methodischen Verfahren möchte ich mich hier nicht eingehender beschäftigen; es sei mir nur gestattet, etliche Gesichtspunkte hervorzuheben, die die Forscher bei der Vervollkommnung der Methodik sich stets vor Augen hielten und welche auch mich bei meiner Arbeit geleitet haben.

Der Grund dieser verschiedenen Befunde wird allgemein in der Unzulänglichkeit der Methodik gesucht; daher die mannigfaltige Bestrebung nach deren Vervollkommnung; die Verfasser vernach-

[1]) Die Resistenz wird in der ganzen Arbeit weiterhin mit R. bezeichnet.

lässigten aber dabei eben solche physiologische Faktoren, welche einen wesentlichen Einfluß auf die R. ausüben.

Die in den Lehrbüchern von *Naegeli* (3), *Brugsch-Schittenhelm* (4) angeführte Methodik (ein Tropfen Blut in NaCl-Lösungen von verschiedener Konzentration untersucht), wurde von *Hamburger* (5) (der defibriniertes, gewaschenes Blut verwendet) und von *Brinkman-van Dam* (6) verbessert, die behufs Waschung und Herstellung der hypotonischen Lösung eine Pufferlösung verwendet hatten, deren Konzentration betreffs aller Salze des Blutes annähernd gleichkam, allein hinsichtlich des NaCl-Gehalts von demselben sich unterschieden. Diese Verfasser haben eine „primäre" und eine „sekundäre" R. der Zellen unterschieden. Erstere ist die R. der gewaschenen der Plasmawirkung ledigen, letztere jene der vom Plasma nicht abgesonderten Zellen. Meines bescheidenen Erachtens nach ist die Untersuchung der sekundären R. viel zweckmäßiger, da es unvorstellbar ist, daß die Blutzellen innerhalb der Blutbahn von dem Plasma abgesondert auf die auf sie einwirkenden Einflüsse reagieren würden; wir können die R. der isolierten Zellen ganz außer acht lassen, da diese Modalität eben im Leben sowieso nicht in Betracht kommt. Obige Autoren haben den Prozentsatz der Hämolyse auf kolorimetrischem Wege bestimmt.

Im Gegensatz zu jenen hat *Hans Simmel* (9) auf Grund der Arbeiten von *Chanel*, *Vaquez* (7), *Janowski* (8) eine Blutzählungsmethode ausgearbeitet, bei der er eine Normalsalzlösung verwendete, die auch hinsichtlich ihrer H-Ionenkonzentration jener des Blutes gleichkam und sich von dieser nur durch den NaCl-Gehalt unterscheidet; den Grad der Hämolyse hat er mittels Zellenzählung festgestellt. (In sechs bis sieben Pipetten, welche Blut mit einer NaCl-Lösung von verschiedener Konzentration enthielten, wurden nach halbstündigem Stehenlassen die nicht aufgelösten Zellen abgezählt und der R.-Grad bestimmt.)

Der Zweck meiner Arbeit war, die R. der Zellen und deren Veränderungen zwischen gänzlich physiologischen Umständen, in einem dem Blute möglichst entsprechenden Milieu, mit Ausschaltung aller übrigen beeinflussenden Faktoren, zu untersuchen. Dies ist im erhöhten Maße erforderlich, will man die *absolute Zellen-R.* bestimmen. (Absolut ist die Bestimmung, wenn man die R. von kranken Individuen mit jener des normalen Individuums vergleicht.) Man kann in gewissem Maße davon absehen, wenn man nur die *relative R.* bestimmen will. (Relativ ist die Bestimmung, wenn wir die Zellen-R. ein und desselben Individuums mit einem früheren Status vergleichen, und zwar deshalb, weil in ein und demselben Individuum alle beeinflussenden Faktoren in gleichem Maße unsere Ergebnisse modifizieren.)

Gegenwärtige Arbeit befaßt sich nur mit zwei der die R. beeinflussenden Faktoren, deren Vernachlässigung die bisherigen verschiedenen Ergebnisse vielleicht teilweise erklären mögen. Bisher wurde nämlich außer acht gelassen: 1. Der Zeitpunkt der Blutentnahme (ob bei leerem Magen oder nach erfolgter Nahrungsaufnahme); ferner wurde der Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme nicht angegeben. 2. Wurde die Veränderung des Gewichtszustandes des Kranken oder

gesunden Individuums (Zunahme, Abmagerung) übersehen, wohingegen es später ersichtlich wird, in wie hohem Prozentsatz diese Faktoren die gewonnenen Werte modifizierten.

Methodik.

Zur Feststellung der R. wurde die einfachere und im gegebenen Falle ganz genaue Ergebnisse liefernde modifizierte *Hamburger*sche Methode verwendet. Die Waschung der roten Blutzellen wurde aus obengenannten Gründen unterlassen. Das Blut wurde aus der Vena communicans des Hinterbeins bei Hunden mittels Spritze, bei Kaninchen aus der Ohrvene mittels Nadel gewonnen. Die Pipetten, Eprouvetten wurden mit einer isotonischen Oxalatlösung durchspült, um eine Koagulation zu verhüten. Aus der isotonischen NaCl-Lösung wurden verschiedene hypotonische Lösungen bereitet. Zu je 1 ccm wurde 1 Tropfen Blut hinzugefügt (0,3 ccm) und der Inhalt der Tuben nach mäßigem Schütteln und einem viertelstündigen Stehen abzentrifugiert. Nachher wurde der Grad der Hämolyse in der über dem Zentrifugatum sich befindenden Flüssigkeit vom Minimal- zum Maximalwert mittels kolorimetrischer Vergleichungen festgestellt. 3 Tropfen Blut in 3 ccm destillierten Wassers gelöst, ergibt 100% Hämolyse, woraus durch Verdünnung verschiedene (10-, 20-, 30% usw. Hämolyse entsprechende) Lösungen bereitet wurden. Die Verdünnung muß stets mit destilliertem Wasser ausgeführt werden, da bei einer physiologischen NaCl-Lösung die reversible Hämolyse störend wirken würde, nämlich die durchsichtige Farbe durchscheinend wird.

Behufs Entscheidung der Frage, ob die aus dem Plasma den Blutzellen anhaftende lipoide Schicht die R. beeinflußt und ob dieselbe durch Waschung entfernbar ist, habe ich fallweise parallel gewaschene rote Blutzellen mit der R. von ungewaschenen, zentrifugierten Blutzellen verglichen. (Eine nennenswerte Differenz konnte nicht verzeichnet werden.)

Experimenteller Teil.

Den Antrieb zu meinen Experimenten haben jene Beobachtungen gegeben, welche sich gelegentlich meiner früheren Arbeit: „Die Wirkung des Arsens und Eisens auf die Gesamtblutmenge usw.“[1]) auf den Zusammenhang der Zellen-R. mit der Dosierung, besser gesagt, mit der Körpergewichtsveränderung bezogen.

Es schien, als ob die den Organismus aufbauenden fixen Zellen den mobilen Zellen ganz entgegengesetzt reagieren. Es wurde nämlich beobachtet, daß mit der hochgradigen Abmagerung nach toxischen Arsendosen eine R.-Steigerung, hingegen mit der Körpergewichtszunahme parallel eine R.-Verminderung einhergeht. Diese Wechselbeziehung zwischen R. und Dosis wurde durch die Versuche mit Fe nicht bestätigt, bei denen die beständige Dosis 0,5 g eine R.-Verminderung oder -Steigerung ergab, je nachdem das Tier zu- oder abgenommen hat. Es konnte aus jenem Umstande eher angenommen werden, daß die R. mit dem Körpergewichtszustande bzw. mit dem Eiweißfettstoffwechsel in Wechselbeziehung stehe. „Es ist eine Tatsache, daß der Organismus im Notfall in erster Linie das

[1]) Magyar Orvosi Archivum 1926, S. 612.

aufgespeicherte Fett verwendet. Das Fett kann in situ nicht oxydiert werden, muß folglich an Eiweißstoffe gebunden zu den Muskeln und drüsigen Organen gefördert werden. In allen Fällen also, wo das Tier abmagert, mobilisiert es seine Reserve an Fett. Das Fett wird in Form von Eiweißfettstoffen, von den roten Blutkörperchen teilweise adsorbiert, weiter gefördert, und vermöge dieser Adsorption können die Zellen den veränderten osmotischen Verhältnissen gegenüber größeren Widerstand leisten."

Obige Ergebnisse (s. Tabelle I) sprechen allenfalls dafür, daß eine Veränderung in dem Ernährungszustande in allen Fällen eine derartige Veränderung im Blutzellenmilieu (selbst wenn die Eiweißfettadsorptionstheorie im Laufe der Zeit sich nicht bestätigen würde) mit sich bringt, welche auch auf die R. der Zellen keine Wirkung ausübt.

Tabelle I.

Nr.	Datum	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufn.	Körpergewicht	NaCl-Lösung in %						
				g	0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
1	17. X.	nüchterner Magen	vorheriger Tag zwischen 19h und 20h	5 100	0	Sp.	20	60	100		
	21. XI.			4 800	0	Sp.	10	20	60	100	
2	14. XI.			8 510	0	0	Sp.	10	60	80	100
	7. XII.			9 100	0	Sp.	2	25	80	100	100
	26. I.			7 800	0	0	Sp.	10	60	90	100
	9. II.			9 200	0	Sp.	5	50	80	100	
	23. II.			10 000	0	2—3	6—8	30	90	100	
3	23. XII.			7 300	0	Sp.	5	60	90	100	
	30. I.			7 035	0	0	2	20	90	100	
	15. II.			7 100	0	5	15	50	90	100	
4	22. XII.			8 000	0	m. Sp.	10	60	90	100	
	13. I.			8 700	0	Sp.	5	40	80	100	
	8. II.			8 000	0	Sp.	5	30	60	85	100
5	29. XII.			4 900	0	5	20	50	80	90	100
	12. I.			4 850	0	0	Sp.	3	30	70	100
	3. II.			5 100	0	Sp.	6	30	90	98	100
6	1. III.			8 700	0	0	Sp.	7	40	80	100
	11. III.			9 150	0	Sp.	2	15	50	80	100
	16. VI.			11 800	0	Sp.	2	10	50	90	100
	25. VI.			12 000	0	m. Sp.	Sp.	60	70	90	100
	9. VII.			11 700	0	m. Sp.	Sp.	12	50	80	100

Hämolyse in % angegeben. Sp. = Spuren, m. Sp. = minimale Spuren.

Durch diese Daten wurde ich veranlaßt, mich mit der Frage eingehender zu beschäftigen, da ich annahm, dadurch in den Besitz solcher Faktoren zu kommen, die die Resultate der auf das kristalloid-kolloidale System der Zellen Einfluß ausübenden Faktoren wesentlich verschieben. Die Veränderung der Zell-R. ist in den seltensten Fällen auf eine einzige unmittelbare Ursache, sondern vielmehr auf eine ganze Reihe von Ursachen zurückzuführen; welche zwar einen einzigen Ursprung haben, aber ihre Wirkung die Resultante mancher von diesen einzelnen Ursachen bedingten Ver-

änderungen so im Milieu (Plasmabeschaffenheit, Cholesterin-Lecithinverhältnis, Eiweiß- und Fettstoffmengen, Ionenkonzentration — Veränderungen, Reaktion, Hormonwirkung) wie selbst in den Zellen ist.

In meinen weiteren Forschungen ging ich von der Annahme aus, daß bei Abmagerung (wenn es Tatsache ist) die Eiweißfettstoffe, in die Blutbahn gelangend, eine R.-Steigerung verursachen, und so müssen wir auch bei der Nahrungsaufnahme, wo die resorbierten Nährstoffe in die Blutbahn gelangen, ähnliche Veränderung beobachten können.

Die Versuche wurden in der I. Abteilung für innere Krankheiten des „Uj Szent János Kórház" an zwei epileptischen und an einem mit Cat. apicis behafteten Kranken gemacht. Das zur ersteren Bestimmung erforderliche Blut wurde der Vena cubitalis morgens bei nüchternem Magen entnommen (die letzte Nahrungsaufnahme hat tags vorher zwischen 7 bis 8 Uhr abends stattgefunden). Nach der Blutentnahme haben die Kranken reichliches Frühstück, bestehend aus 2,5 dl Milch, 10 dg Brot, 5 dg Butter, bekommen. Die zweite Bestimmung (ebenfalls Blut aus der V. cubit.) erfolgte 5 bis 7 Stunden nach dem Frühstück. Die Ergebnisse wurden in Tabelle II zusammengefaßt.

Es ist ersichtlich, daß es in den meisten Fällen gelungen ist, durch äußerliche Nahrungszufuhr eine R.-Steigerung zu erreichen; ja sogar, daß die an Hunden stets schon beobachtete Gesetzmäßigkeit fast immer nach Veränderungen im Ernährungszustande konstatierbar ist. Als Kuriosum kann eine etwa vom Zufall bedingte, interessante Beobachtung bemerkt werden: In einem Falle hat die R.-Untersuchung ein dem Körpergewicht gar nicht entsprechendes Resultat ergeben, bei wiederholtem Abwägen des Patienten ergab sich ein Wägungsirrtum von 1 kg gegen den Befund des Morgens (Patient hat angegeben, in der Zwischenzeit weder Fäces noch Urin entleert zu haben).

Da meine Annahme somit eine Bekräftigung fand, wollte ich meine Daten mit einer größeren Zahl von Experimenten ergänzen. Um an und für sich schon leidenden menschlichen Individuen mit ähnlichen Experimenten verbundene Quälereien zu ersparen, habe ich mich entschlossen, jene durch Tiere zu ersetzen, um so mehr, da aus den an diesen gewonnenen Beobachtungen Folgerungen gezogen werden können.

In den folgenden Experimenten wurden drei gesunde Hunde eingestellt. Den Tieren wurde seit 19 bis 20 Uhr vorigen Tages jegliche Nahrung entzogen. Das Blut wurde aus einer oberflächlichen kommunizierenden Vene des Hinterbeines gewonnen. Die erste Bestimmung wurde um 12 Uhr, die folgende 5 bis 6 Stunden nach der Nahrungsaufnahme vollzogen. Die Tiere haben reichliche gemischte Kost (vorwiegend Fleisch) bekommen. Die diesbezüglichen Beobachtungen faßt Tabelle III zusammen.

Es ergibt sich aus der Tabelle III, daß in den einzelnen Röhrchen nach der Nahrungsaufnahme eine 20- bis 40% R.-Steigerung wahrnehmbar ist. Eine Ausnahme weist das Experiment an dem Tier Nr. 3 auf; dieses Tier wurde einseitig mit überreichlichem Fett gefüttert (es hat 5% des eigenen Körpergewichts verschlungen). Nach 4 bis 5 Stunden zeigte sich im Plasma schon mit freiem Auge eine ausgesprochen lipämische Trübung und ergab eine R.-Verminderung; nach 8 Stunden war im Verhältnis zum vorherigen Zustande teilweise eine Steigerung, und erst am nächsten Tage früh, also 12 Stunden nachdem jegliche Nahrung entzogen wurde, war eine vollkommene R.-Steigerung bemerkbar. Diese abweichende Reaktion

Tabelle II.

Name	Datum	Zeit	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme	Körpergewicht kg	NaCl-Lösung in %						
						0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
K. S.	6. VIII.	9h		5. VIII. 19h	61,80			0	18	75	100	
	7. VIII.	8h		6. VIII. 19h	62,40			0	50	80	100	
		13h 35′	9h					0	20	75	100	
F. K.	6. VIII.	9h		5. VIII. 19h	50,80			0	30	76	100	
	8. VIII.	8h 30′		7. VIII. 19h	51,30			0	8	75—80	100	
		14h	9h					0	8—10	60	100	
	9. VIII.	10h		8. VIII. 19h	51,30			0	7	50	100	
	12. VIII.	9h		11. VIII. 19h				0	13	65	100	
		14h	9h					0	15	61	100	
V. A.	15. VIII.	10h		14. VIII. 19h				0	30	90	100	
		17h	9 und 12h					0	22	85	100	
B. Gy.	11. VIII.	9h		10. VIII. 19h	38,50			0	4	45	98—100	
	23. VIII.	9h		22. VIII. 19h	41,70			0	5	50	96—98	

Tabelle III.

Nr.	Datum	Zeit	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme	Körpergewicht kg	NaCl-Lösung in %							
						0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30	0,25
1	15. XI.	12h	7—8h		13,373	0	0	0	1	16	60	98	100
	16. XI.	11h	nücht. Magen	15. XI. 18h		0	0	0	6	25	90	100	
		16h 35′	12—14h			0	0	0	6	15	70	100	
	17. XI.	12h 30′	nücht. Magen	16. XI. 19h		0	0	0	5	10	75—80	100	
		18h 30′			13,100	0	0	0	1	10	60	98	100
					*)	0	0	0	2	10	60	98	100
2	16. XI.	12h 30′	„ „	15. XI. 19h	16,300	0	0	1	30	50	98	100	
		18h	13—14h			0	0	Spuren	15	40	98	100	
	18. XI.	12h	nücht. Magen	17. XI. 20h	16,800	0	0	Spuren	7	45	98	100	
					*)	0	0	0	4	50	95	100	
		17h 30′	12h 30′			0	0	0	2	40	70	100	
3	29. XII.	9h 20′	nücht. Magen	28. XII. 19h	13,450	0	0	0	1	15	70	98	100
		14h	9h 30 **)		14,100†)	0	0	0	2	20	84	98	100
		17h 30′			14,100	0	0	0	2	25	78	98	100
	30. XII.		nücht. Magen	29. XII. 18h	13,800	0	0	0	2	16	55	96	98

*) Das sind gewaschene rote Blutzellen. — **) Fleischig-fette Küchenabfälle. — †) Ausgesprochen lipämisches Blut.

konnte ich nicht erklären und will mich auch aller nicht stichhaltigen Deutungen enthalten, da in extremen Fällen mannigfaltige Gründe die R. der roten Blutzellen beeinflussen können, deren Erklärung ganz und gar unmöglich ist. Bei dieser Gelegenheit wurde die R. der gewaschenen und ungewaschenen Blutzellen verglichen. Ein wesentlicher Unterschied war aber nicht festzustellen; in einigen Fällen haben sich die gewaschenen Blutzellen als minimal resistenter erwiesen.

Nun ging ich auf Kaninchen über, bei denen einerseits die Blutgewinnung unverhältnismäßig leichter durchführbar, andererseits die Dosierung der Nahrung mittels der Sonde zweckentsprechender ist.

Es wurde vor allem untersucht, ob die roten Blutzellen der Kaninchen auf die einverleibten Nahrungsstoffe ähnlich reagieren, wie jene des Menschen und des Hundes, und speziell das Fett oder die übrigen Nährstoffe (Eiweiß, Kohlehydrate) eine ausgesprochenere Wirkung ausüben.

Bei den Kaninchen wurde, ähnlich wie bei den Hunden, die Nahrung um 19 Uhr entzogen und die erste Untersuchung am nächsten Tage um 11 Uhr gemacht. Zuerst wurde den Tieren Hafer verabreicht. 4 bis 5 Stunden war eine entschiedene und konsequente R.-Veränderung nicht bemerkbar. (Das mag darin seinen Grund haben, daß dieser Zeitraum zur Verdauung und Resorption des Hafers nicht genügt, und daß die Tiere überhaupt noch unter der Haferwirkung gestanden haben mögen, da sie hauptsächlich und systematisch damit gefüttert wurden.)

Den Tieren Nr. 1, 2, 3 und 4 wurden nachher 50 ccm lauwarmer Milch mit 10 bis 15 g Olivenöls, gut geschüttelt, gegeben. 4 bis 5 Stunden später wurde in vier Fällen ausgesprochene (röhrchenweise) 20- bis 45% R.-Steigerung konstatiert. Tier Nr. 3 bildete eine Ausnahme, wo 5 Stunden nach Einführung der Nahrung eine mindergradige R.-Abnahme bemerkbar war. Das Verhalten ist ähnlich wie jenes vom Hund Nr. 3 und entbehrt einer Erklärung.

Obige Resultate wurden in der Tabelle IV zusammengefaßt, und hier an letzter Stelle jenes Experiment verzeichnet, wobei an einem Tiere die R.-Veränderung 3,5, 6 bzw. 8 Stunden nach erfolgter Nahrungsaufnahme untersucht wurde; nach 3,5 Stunden zeigte sich eine R.-Verminderung; nach 6 Stunden eine im Verhältnis zur letzten Untersuchung vollkommene, aber im Vergleich zur Untersuchung bei nüchternem Zustande eine teilweise R.-Steigerung (d. h. nur in manchen Röhrchen), nach 8 Stunden vollkommene und ausgesprochene R.-Steigerung.

Die Frage, ob, wenn die Fettstoffe allein in die Blutbahn gelangen, diese eine Steigerung der R. bewirken, glaubte ich auf zweierlei Weise entscheiden zu können. Einerseits mittels intravenöser Applizierung von *Fettemulsion*, andererseits an Hand einer Phosphorvergiftung, da durch die Versuche *Mansfelds* (11) die Vermehrung des freien Fettes im Blutplasma, infolge der Fettmigration, eine erwiesene Tatsache ist.

Es wurde erstens ½ ccm Olivenöl in 8 ccm 0,9% NaCl-Lösung mittels ein wenig Waschseife in Emulsion gebracht (die Emulsion reagierte auf Lackmus neutral). Dieselbe wurde innerhalb 10 Minuten allmählich in die Vena jug. ext. injiziert, bei der nach 15 Minuten erfolgten Bestimmung konnte eine Verminderung der R. beobachtet werden.

Dann wurden wieder unter ähnlichen Umständen 20 ccm Emulsio amygdalina (Ol. amygd. 4 g, Sacch. allg., Gummi arab. je 2 g, Aqua dest. 32 g) den Tieren beigebracht. Eine Veränderung in der R. erfolgte nicht. Das Tier verschied am nächsten Morgen an Fettembolien.

Tabelle IV.

Nr.	Datum	Zeit	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme und Gattung der Nahrung	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme	Körpergewicht g	NaCl-Lösung in % 0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
1	22. XI.	16h 30′	12h Hafer	—	1700	0	0	1—2	23	70	100	100
	23. XI.	11h 40′	nücht. Magen	22. XI. A. 19h	1600	0	0	1—2	30	98	100	100
		15h 45′	12h Hafer	—	1820	0	0	1—2	30—35	90	100	
	25. XI.	12h 45′	nücht. Magen	24. XI. A. 19h	1800	0	0	1—2	18	96	100	100
		15h 45′	12h 45′ Milch und Öl	—	1820	0	0	m. Sp.	12	92	100	100
2	23. XI.	12h 35′	nücht. Magen	22. XI. 19h	1470	0	0	2	40	85	95—98	
		16h 25′	13h Hafer	—	1600	0	0	1	34	90—95	98	
	26. XI.	12h 15′	Hafer	—	1600	0	Sp.	26	60	96	100	
		16h 30′	12h 30′ Milch und Öl	—	1770	0	Sp.	14	48	96	100	
3	21. XII.	14h 15′	nücht. Magen	20. XII. 18h	2050	0	0	m. Sp.	6	70	98	100
		19h	14h 30′ Milch und Öl	—		0	0	m. Sp.	10	80	98	100
4	21. XII.	14h 30′	nücht. Magen	18h	2100	0	0	m. Sp.	12	85	100	100
		19h 15′	14h 45′ Milch und Öl	—	2153	0	0	0	5	70	98	100
	22. XII.	11h	nücht. Magen	14h 45′	2050	0	0	m. Sp.	11	70	90	100
		14h 15′	11h 15′ Milch und Öl	—	2100	0	0	1	17	60	78	100
	23. XII.	11h	Hafer	—	2300	0	0	0	11	70	96	100
		14h 55′	11h 15′ Milch und Öl	—	2100	0	0	0	18	75	95	100
		17h	—		2070	0	0	0	15	66	95	100
		19h			2000	0	0	0	10	62	94	100

Sp. = Spuren, m. Sp. = minimal. Spuren. Hämolysis in % angegeben.

Tabelle V.

Nr.	Datum	Zeit	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme und Gattung der Nahrung	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme	Körpergewicht g	NaCl-Lösung in % 0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
3	22. XII.	12h45'	nüchterner Magen	21. XII.	2050	0	0	0	8	60	92	100
		12 50	8 ccm Emulsion Ol i. v.	20h30'								
		13 10				0	0	0	11	70	96	100
	23. XII.	7 45	Hafer			0	0	0	12	45	98	100
			20 ccm Emulsion Amygdal. i. v.									
		8 15				0	0	0	14	45	98	100
	24. XII.		exitus									

Diese Experimente können nicht — in negativer Richtung — als beweisbringend erachtet werden, da sie eine so hochgradige Veränderung des Milieus verursachen konnten, welche die Blutzellen beeinflussen; bei alledem erwecken sie den Schein, als ob die Fettstoffe allein eine Steigerung der R. nicht bewirken könnten.

Zwecks der toxischen Phosphorexperimente wurden fünf Kaninchen herangezogen, die Bestimmung der R. wurde auch hier stets bei leerem Magen vollzogen.

Dem Tier Nr. 1 wurden 2 g Ol. ph. subkutan, dem Tier Nr. 2 dieselbe Dosis per os verabreicht. Bei dem Tier Nr. 1 war am zweiten Tage eine ausgesprochene, bei dem Tier Nr. 2 am nächsten Tage eine weniger ausgeprägte Verminderung der R. konstatierbar. Nach Wiederholung der Phosphordosis erfolgte Exitus der beiden Tiere. Befund: ausgesprochener Phosphorgeruch bei Eröffnung der Bauchhöhle, enorm vergrößerte brüchige Fettleber.

Den drei übrigen Tieren wurde nur je 1 g Ol. ph. (0,05 g Phosphor) subkutan injiziert, die Tiere magern ohne Ausnahme ab. Bei den Tieren Nr. 4 und 5 ist anfangs eine mindergradige Abnahme der R. konstatierbar, welcher am vierten Tage eine Steigerung, nachher aber bald eine sehr ausgeprägte Verminderung der R. folgte. Bei dem Tier Nr. 6 konnte diese dazwischen auftretende Steigerung der R. nicht festgestellt werden.

Die Experimente mit Phosphor sind in der Tabelle VI zusammengefaßt.

Aus der Veränderung der R. bei den mit Phosphor behandelten Tieren können zwei Folgerungen gezogen werden: entweder hat der Phosphor selbst eine solche ausgesprochene toxische Wirkung auf die Blutzellen, daß er die ausgesprochene, anfängliche und terminale Verminderung der R. verursacht, oder er bewirkt eine derartige Verschiebung im Milieu (Acidose?),

Tabelle VI.

Tabelle VI.

Nr.	Datum	Zeit	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme und Gattung der Nahrung	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme	Körpergewicht g	NaCl-Lösung in % 0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
4	24. XII.	10h30'	—	23. XII. 19h	2000	0	0	0	2—3	71	95	100
		11	1 ccm P-Öl									
	28. XII.	15	Hafer		1850	0	0	0	1	20	70	98
	29. XII.	9 35	nüchterner Magen	28. XII. 19h	1730	0	0	0	2	35	95	98
	4. I.	9 35	„ „	3. I. 19h	1700	0	0	2—3	50	94	98	100
5	29. XII.	11 30	„ „	28. XII. 20h	2320	0	1	10	64	95	98	100
		11 40	1 ccm P-Öl									
	30. XII.	10 10	nüchterner Magen	29. XII. 19h	2100	0	1	12	66	96	98	100
	3. I.	19	„ „	2. I. 21h	1910	0	0	6	52	94	98	100
	4. I.		„ „	2. I. 19h	1880	0	3—4	25	85	95	97	98—100
	6. I.		exitus									
6	29. XII.	12 40	nüchterner Magen	28. XII. 20h	2420	0	0	1	30	95	100	100
		12 50	1 ccm P-Öl									
	31. XII.	10	nüchterner Magen	30. XII. 19h	2400	0	Sp.	14	68	97	98	100
	3. I.	19 15	„ „	9h	2335	0	m. Sp.	14	80	95	98	100
	4. I.	9 35	„ „	3. I. 20h	—	0	5—6	26	85	96	98	100
1	1. XII.	11 45	„ „	30. XI. 19h	1670	0	0	m. Sp.	68	92	100	
	2. XII.	14 40	2 g P-Öl									
	4. XII.	12	nüchterner Magen	3. XII. 19h	1700	0	9	42	70	98	100	
	4. XII.	12 10	2 g P-Öl									
	5. XII.		exitus									
2	1. XII.	11 30	nüchterner Magen	30. XI. 19h	1620	0	0	4	32	92	100	
	2. XII.		2 g P-Öl per os									
	3. XII.	17	nüchterner Magen	2. XII. 19h	1583	0	0	5—6	23	98	100	
	3. XII.		2 g P-Öl subkutan									
	6. XII.		exitus									

daß diese die obigen Erscheinungen hervorruft. Von der Vermehrung der freien Fette im Plasma (sei es als primäre Ursache oder Folgezustand) würde man auf Grund der Fettadsorptionstheorie eine Steigerung der R. erwarten (dafür sprechen die Beobachtungen nach Nahrungsaufnahme und die im Hungerzustande auftretende Steigerung der R.; dagegen: Hund Nr. 3, Kaninchen Nr. 3), ein Umstand, welcher in obigen Versuchen vorwiegend nicht beobachtet werden konnte.

Der gegenwärtigen Versuchsreihe kann aber noch bei weitem keine entscheidende Rolle zugesprochen werden, da, wie bekannt ist, der Phosphor die Reserven der Fettdepots mobilisiert; es kann aber ebenso angenommen werden, daß nach einer gewissen Zeit dieser seine Wirkung auch auf die roten Blutzellen ausübt und dieselben an Lipoidstoffen ärmer macht. Die periodische Steigerung der R. kann etwa mit der Annahme erklärt werden, daß der Phosphor die Zellen bzw. die Gewebe der Reihe nach angreift. Gelegentlich der Resorption übt er zunächst seine Wirkung auf die Blutzellen aus, vollkommen resorbiert, veranlaßt er die Fettwanderung, welche eine flüchtige Steigerung der R. verursacht, um bald wieder der primären, die Zellen schwächenden Wirkung des Phosphors den Platz zu räumen.

Obige Versuche haben mich veranlaßt, die R.-steigernde Wirkung der Fettstoffe nicht zweifellos anzunehmen. Deshalb habe ich in den folgenden Experimenten einzelne spezialisierte Nährstoffe (Eiweiß, Kohlehydrat, Fettstoffe) verabreicht, um festzustellen, welcher von ihnen die ausgeprägteste Wirkung hat.

Zuerst wurden Eiweißstoffe (Casein, Pepton) versucht. Bei dem Tier Nr. 1 wurden 5 g Casein in 80 ccm lauwarmen Wassers gelöst, dem Tiere mittels Sonde zugeführt, und schon nach 3 Stunden 45 Minuten 78- bis 26- bis 12% R.-Steigerung konstatierbar; bei dem Tier Nr. 2 konnte auf 10 g Pepton in 50 ccm lauwarmen Wassers nach 5 Stunden eine 14- bis 22% Steigerung beobachtet werden.

Bei weiteren zwei Tieren habe ich Milch und Casein bzw. Milch und Pepton angewandt; nach 4 Stunden 45 Minuten war bei dem ersten Tier etwa 90- bis 40- bis 2%, bei dem zweiten Tier 100- bis 62% Steigerung der R. feststellbar.

Man könnte daraus schließen, daß die ausgeprägteste R.-Steigerung mit Hilfe ausschließlicher oder überwiegender Verabreichung von Eiweißstoffen erreicht wurde. Das spricht unbedingt dafür, daß die gelegentlich der Nahrungsaufnahme einverleibten Eiweißstoffe eine große Rolle bei der Steigerung der R. spielen.

Die Wirkung der Kohlehydrate wurde in drei Experimenten untersucht, wobei je 20 g Zucker, in 80 ccm lauwarmen Wassers gelöst, verwendet wurden. Bei dem Tier Nr. 1 erfolgte die Untersuchung nach 8 Stunden und ergab eine Verminderung der R; bei dem Tier Nr. 2 fand ich nach 5 Stunden eine Steigerung; bei dem Tier Nr. 3 nach 5 Stunden 30 Minuten eine minimale, nach 6 Stunden 30 Minuten eine etwas ausgesprochene Steigerung der R. (Tabelle VIII).

An Hand dieser Experimente ergibt sich, daß auf die Wirkung der Kohlehydrate die Steigerung der R. nicht genug ausgesprochen ist, sich langsamer entwickelt als nach den Eiweißstoffen und schneller abklingt.

In drei Fällen wurde Öl, mit lauwarmem Wasser zusammen geschüttelt, verabreicht, und zwar an Nr. 5 und 7 je 20 ccm mit 40 ccm lauwarmen Wassers, an Nr. 8 10 ccm. Bei Kaninchen Nr. 5 zeigte sich nach 8 Stunden

Tabelle VII.

Nr.	Datum	Zeit	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme und Gattung der Nahrung	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme	Körpergewicht	NaCl-Lösung. %						
					g	0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
6	31. XII.	10h	nüchterner Magen	30. XII. 19h	2400	0	Sp.	14	68	97	98	100
		10 15′	5 g Casein in 80 ccm Wasser									
		14				0	m. Sp.	3	50	85	97	98—100
						. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .
7	30. XII.	11 15	nüchterner Magen	29. XII. 20h	2000	0	0	0	14	64	94	98
		11 30	10 g Pepton in 50 ccm Wasser									
		16 30	—		2020	0	0	0	12	50	95	98
						. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .
	4. I.	9 40	nüchterner Magen	3. I. 20h	1990	0	0	6	48	75	98	100
		9 45	5 g Pepton in 50 ccm Wasser, 50 ccm Milch									
		14 30			2000	0	0	m. Sp.	18	74	96	100
						. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .
6	4. I.	9 55	nüchterner Magen	3. I. 20h	1700	0	0	2—3	50	94	98	100
		10	5 g Casein in 1 g $NaHCO_3$, 80 ccm Wasser, 20 ccm Milch									
		14 40			1750	0	0	Sp.	30	92	98	100
			—		—	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .	. . . .

Tabelle VIII.

Nr.	Datum	Zeit	Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme und Gattung der Nahrung	Zeitpunkt der letzten Nahrungsaufnahme	Körpergewicht g	NaCl-Lösung. % 0,60	0,55	0,50	0,45	0,40	0,35	0,30
6	1927 4. I.	9h35′	nüchterner Magen	3. I. 20h	2370	0	5—6	26	85	96	98	100
		9 45	20 g weißer Zucker, 60 ccm Wasser									
		17 40				0	16	56	95	98	100	100
7	8. I.	9 45	nüchterner Magen	7. I. 19h	3200	0	1	18	80	94	98	100
		10	20 g Zucker, 80 ccm Wasser									
		16 30			3100	0	Sp.	14	62	95	98	100
8	11. I.	10	nüchterner Magen	10. I. 19h	2000	0	0	Sp.	28	90	98	100
		10 5	20 g Zucker, 50 ccm Wasser									
		15 30				0	0	0	25	90	98	98—100
		16 30				0	0	0	22	84	98	98—100

Tabelle IX.

5	4. I.	9h20′	nüchterner Magen	3. I. 19h	1880	0	3—4	25	85	95	97	98—100
		9 30	20 ccm Ol. oliv., 40 ccm Wasser									
		17 20				0	1	23	70	86	96	98—100
7	11. I.	9 30	nüchterner Magen	10. I. 19h	3120	0	5	25	75	94	97	98
		9 50	40 ccm 0,9% NaCl-Lösung, 20 ccm Ol. oliv., 20 ccm Wasser									
		15 20				0	2—3	26	70	88	98	98—100
8	8. I.	10 10	nüchterner Magen	7. I. 20h	1880	0	0	0	14	80	100	
		10 15	50 ccm 0,9% NaCl-Lösung, 10 ccm Ol. oliv.									
		16 40				0	0	0	25	90	98	100

eine R.-Steigerung (33- bis 8- bis 18- bis 8%), bei Nr. 7 nach 5 Stunden 30 Minuten eine Verminderung der minimalen (4- bis 1%) und eine Steigerung der maximalen R. (6%); bei Nr. 8 nach 6 Stunden eine ausgesprochene Verminderung der R.

Die Beobachtung, daß nach 8 Stunden auch auf Oleum oliv. eine R.-Steigerung beobachtbar ist, spricht dafür, daß selbst das reine Öl das Milieu und somit auch die Zellen zu beeinflussen imstande ist, aber diese Wirkung macht sich langsamer geltend als nach Kohlehydraten und ist nicht ausgeprägt, ferner geht ihr eine negative Phase voran. *Aus diesen Experimenten ist ersichtlich, daß weder das reine Öl, die freien Fette noch die Kohlehydrate eine so ausgeprägte Wirkung haben, wie die Eiweißstoffe oder deren mit minimalen Fettquanten verbundene Formen (Eiweißstoffe + Milch).*

Diskussion.

Bei Übersicht der experimentellen Ergebnisse kann als erwiesene Tatsache angenommen werden, daß sowohl die Veränderungen des Körperzustandes als auch die Ernährung eine wesentliche Wirkung auf die R. der roten Blutzellen ausüben, folglich sind deshalb in der Methodik die obigen Gesichtspunkte unerläßlich.

Es wäre von Wichtigkeit, eine Erklärung für den Mechanismus dieser Veränderungen zu geben. Auf Grund dieser Experimente läßt sich hinsichtlich der ursprünglichen Ursache kein endgültiges Gutachten abgeben, sondern nur eine Folgerung machen. Tatsache ist, daß sowohl die Veränderungen des Körperzustandes als auch die Ernährung eine derartige Veränderung im Milieu der roten Blutzellen bewirken, daß ihr zufolge die R. der Zellen steigt oder sinkt. Das ist erwiesen, was noch folgt, ist nur Hypothese, welche noch einer Bestätigung bedarf, aber im Laufe der weiteren Forschungen vielleicht doch nicht ganz nutzlos sein dürfte.

Die Rolle der Eiweißfettstoffe, welche vermöge der Adsorption an den Zellen einen gesteigerten Schutz gegen die osmotischen Verhältnisse gewähren, ist, wenn auch keine erwiesene, doch auch keine umgestoßene Sache, und, weil am wahrscheinlichsten, kann sie als Erklärung für die R.-Veränderungen dienen. Damit will ich nicht behaupten, daß immer diese Veränderung die primäre ist, denn man kann sich ebensogut vorstellen, daß eine Verschiebung der Blutreaktion in alkalischer oder saurer Richtung, oder eine Änderung im Ionengleichgewicht des Blutes auch bei der Nahrungsaufnahme als primäre Ursache obwaltet.

Die Experimente *Acéls* (12), welche bei Aushungern der Tiere eine starke R.-Steigerung ergaben und die der Autor mit dem Hungern in Zusammenhang brachte, scheinen die obige Rolle der Eiweißfettstoffe zu unterstützen. Meines Erachtens nach ist das Hungern nur das auslösende Moment für das Einsetzen der starken Abmagerung, welche durch die Mobilisation der Nährstoffreserven im Sinne obiger Erklärung

wirkt. Die vom Hunger bewirkte Steigerung stellt sich nur nach 24 Stunden ein, was mit meinen Beobachtungen in vollem Einklang steht.

Wenn wir im Haushalt des Organismus diese Rolle der roten Blutzellen und den Verlauf der sich einstellenden systematischen Veränderungen auf Grund der Experimente rekonstruieren wollen, enthüllt sich folgendes Bild vor unseren Augen:

Der Organismus entfaltet Energien, zu deren Zwecke er Kalorien bedarf, in deren Besitz er zum größten Teile, oft im Überfluß, durch die Nahrung kommt (positive Phase), ein andermal aber jene aus seiner eigenen Reserve (Fettdepot, Muskelsubstanz) ersetzt (negative Phase). Betrachten wir nun, was in der einen und in der anderen Phase vor sich geht:

Positive Phase. Die einverleibte Nahrung gelangt durch die Resorption nach einiger Zeit in die Blutbahn, wo sie, die R. steigernd, an die Bedarfsstelle befördert wird, um daselbst den Kalorienverlust zu ersetzen. Nach Befriedigung aller Bedürfnisse wird der etwaige Überschuß aufgespeichert (Gewichtszunahme) und in der Blutbahn stellt sich ein Ruhezustand ein, wonach die R. der Zellen zum Ausgangspunkt zurückkehrt. Dieser Zustand stellt sich etwa 14 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme ein.

Negative Phase. Der zur Resorption und in die Blutbahn gelangte Nährstoff genügt den Bedürfnissen des Organismus nicht; folglich wird es nach der mit der Resorption und Verteilung des ungenügenden Nährstoffs einhergehenden R.-Steigerung nicht zu dem oben geschilderten Ruhezustand kommen, sondern es wird der Reiz des Mangels die Ersatzstoffe des Organismus heranziehen, der Ruhezustand erfolgt nicht oder dauert viel kürzere Zeit, so daß 12 bis 14 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme eine R.-Steigerung beobachtbar ist. Das Milieu der Blutzellen ist nämlich ebenso verändert, allein in diesem Falle nicht zufolge der von außen eingeführten, sondern der eigenen mobilisierten Nährstoffe (Abmagerung, eine Veränderung des Körperzustandes und die damit beobachtete R.-Veränderung).

In obiger Arbeit habe ich meine Untersuchungen über die R. der roten Blutzellen zusammengefaßt. Es sei nochmals betont, *daß die obigen Umstände bei allen ferneren Untersuchungen vor Augen gehalten werden müssen, denn es werden unsere Ergebnisse durch alimentäre Veränderungen derartig beeinflußt, daß man aus ihnen nicht nur keine richtige Folgerung ziehen kann, sondern direkt irregeführt wird.*

Zusammenfassung.

1. Zwischen Körperzustand und dem Verhalten der Blutzellen-R. ist eine Korrelation: auf Abmagerung R.-Steigerung, auf Zunahme R.-Verminderung.

2. Die Nahrungsaufnahme steigert ebenfalls die Resistenz.

3. Zwischen den Nahrungsstoffen entfalten die Eiweißstoffe, Eiweißfettstoffe die größte Wirkung.

Literatur.

1) *L. Chanel*, These de Lyon 1880. — 2) *Hamburger*, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1883. — 3) *O. Naegeli*, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik 1922. — 4) *Brugsch* und *Pappenheim*, Karus Brugsch **8**, 1920. — 5) *Hamburger*, Biochem. Arbeitsmethod. **4**. — 6) *Brinkman* und *van Dam*, diese Zeitschr. **108**, 35, 1920. — 7) *Vaquez*, Gas. des hop. civ, et milet **54**, 1902. — 8) *Janowski*, Lang Nr. 48. — 9) *Simmel*, Ergebn. d. klin. u. med. Kinderheilk. **27**, 1925. — 10) *Gy. Petranyi*, Magy. O. Arch. 1926, H. 6. — 11) *Mansfeld*, ebendaselbst 1908, S. 295. — 12) *Acél*, diese Zeitschr. **95**, 211, 1919.

Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel.

V. Mitteilung:

Über die Rolle der Milz im Fett- und Lipoidstoffwechsel.

Von

S. Leites.

[Aus dem Laboratorium für pathologische Physiologie des Medizinischen Instituts zu Charkow (Ukraine).]

(Eingegangen am 30. April 1927.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Eine Reihe von Untersuchungen und Beobachtungen, sowohl histologischen als auch experimentellen und klinischen, berechtigt zu der Annahme, daß die Milz eine bestimmte Rolle in den Fett- und Lipoidstoffwechselprozessen spielt.

Die morphologischen Untersuchungen von *W. H. Schultze*, *Lutz*, *Kusunoki*, *Siegmund*, *Oppenheimer* und *Fishberg*, *Schiff* u. a. zeigen das Vorhandensein eines Parallelismus zwischen der sogenannten großzelligen Lipoidzellhyperplasie der Milz (bei Diabetes, Splenomegalien) und den Hyperlip- und Lipoidämien. *Kusunoki* kommt nach seinen Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Milz schon physiologisch Anteil am Lipoid- bzw. Fettstoffwechsel habe, indem die Retikulumzellen und vielleicht auch die Sinusendothelien die im Blute kreisenden oder in loco entstandenen Fett- und Lipoidsubstanzen aufnehmen und weiter verarbeiten. Die angeführten histologischen Beobachtungen wurden durch eine Reihe von Arbeiten bestätigt, welche einen Zusammenhang zwischen der experimentell erzeugten Hyperlipämie und Hypercholesterinämie und der Fett- und Lipoidspeicherung in der Milz zeigten. So wurde die Aufnahme des Neutralfettes und Cholesterins von der Milz bei enteraler und parenteraler Einführung von *Anitschkow*, *Chalatow*, *Versé*, *Wacker* und *Hueck*, *Kawamura*, *Zinserling*, *Morita*, *Saxl* und *Donath*, *Roger* und *Binet*, *Kösezg* u. a. festgestellt. Die Lipoidablagerung in der Milz wurde auch bei den durch Hungern (*Okuneff*, *Joannovicz* und *Pick*, *Soper*), Epinephrektomie (*Joannovicz* und *Pick*, *Soper*), Phenylhydrazinanämie (*Kusunoki*) erzeugten Hypercholesterinämien konstatiert. Diese morphologischen Untersuchungen werden durch die Splenektomieversuche (*Eppinger*, *Siegmund*, *Soper*, *Seu*, *Sotti* und *Forre*) ergänzt, indem die letzteren nach Milzexstirpation Hyper-

cholesterinämie fanden. Parallel mit diesen Befunden, welche die Teilnahme der Milz an der Fett- und Lipoidelimination beweisen, existieren Untersuchungen über die aktive Rolle der Milz im Cholesterinstoffwechsel, bei Bildungs- und Zerfallsprozessen. *Abelous* und *Soula*, *Soula* und *Laporte*, *Grigaut* und *Joannovicz* bemerken eine Cholesterinzunahme in der Vena lienalis im Vergleich zu der Arterie; *Abelous* und *Soula*, *Marino* zeigten weiter, daß bei aseptischer Milzautolyse der Cholesteringehalt anfangs zunimmt, um nachher zurückzufallen. Diese Ergebnisse, welchen aber von *Gardner* und *Fox*, *Beumer* widersprochen wird, veranlassen die französischen Autoren, auf die cholesterinbildende Funktion der Milz zu schließen. *Abelous* und *Soula* betonen auch in ihren Untersuchungen die inkretorische Funktion der Milz hinsichtlich der Cholesterinbildung: in dem arteriellen Blute des Hundes steigt der Cholesteringehalt auf 10%, dagegen bei splenektomierten findet eine Abnahme um 18% statt; der Zusatz von Milzextrakt zu diesem Blute hatte eine Cholesterinzunahme zur Folge; Milztransplantation zeigt denselben Effekt. Dieselben Autoren konnten dartun, daß, während bei normalen Hunden der Cholesteringehalt in der V. femoralis denjenigen der Arterie übertrifft, nach der Splenektomie sowie auch nach dem Zusammenpressen der Milzvenen keine Cholesterinzunahme in der V. femoralis beobachtet wird.

Unsere bisherigen Untersuchungen[1]) zeigten, daß in der Norm der Cholesteringehalt in der V. lienalis geringer als in der Arterie ist, während dagegen bei der Belastung mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin der Cholesteringehalt in der V. lienalis im Vergleich zu dem arteriellen Blute entweder zu- oder abnehmen kann; dasselbe gilt auch für Lipoid-P. Wir haben die Tatsache betont, daß die Cholesterinveränderungen in der V. lienalis innig mit den Neutralfettveränderungen verbunden sind, und zwar: die Cholesterinabnahme in der V. lienalis verläuft parallel mit der Neutralfettzunahme, während der Cholesterinsteigerung Neutralfettverminderung entspricht. Die Versuche mit der „Blockade" des r.-e. Systems (s. Mitteilung IV) zeigten den Zusammenhang der Neutralfett- und Cholesterinelimination in der Milz mit der Funktion der r.-e. Elemente; die Teilnahme der letzteren besteht nicht nur in den Eliminationsprozessen, sondern scheinbar auch in den Stoffwechselprozessen der resorbierten Substanzen, und zwar im Sinne von Neutralfettbildung bei Cholesterinelimination und — umgekehrt — Cholesterinbildung bei Neutralfettelimination. Jedoch, wie von uns nachgewiesen wurde, erscheint die Untersuchung von Fett und Lipoiden in der V. lienalis unter den Umständen eines akuten Versuchs (Narkose, Laparotomie) nicht definitiv für den Schluß über die Teilnahme der Milz im Fett- und Lipoidstoffwechsel. Es trat somit die Notwendigkeit auf, die von uns in den vorherigen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse durch Splenektomie zu ergänzen, um so mehr, als die letztere die Frage nach der Rolle und der Bedeutung der Milz

[1]) *S. Leites*, Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel. I., II., III., IV. Mitteilung, diese Zeitschr. **184**, 273, 300, 310; **186**, 391, 1927.

in dem Fett- und Lipoidstoffwechsel, welcher nicht nur intracellulär, sondern auch extracellulär, außerhalb der Milz, stattfindet, aufzuklären erleichtert.

II. Methodik.

Bei den Versuchstieren (Hunden) wurde sowohl vor als auch nach der Splenektomie das statische Fett- und Lipoidblutbild und dessen Veränderungen bei Belastung per os mit Olivenöl, Olivenöl + Cholesterin, sowie bei deren parenteraler Verabreichung untersucht; Bestimmung nach *Bang* und *Briggs* (die Methodikeinzelheiten s. Mitteilung I). Die Versuchsanordnung bei der Fett- und Lipoidbestimmung in den inneren Venen ist dieselbe, wie die in den vorhergehenden Untersuchungen (s. Mitteilung I). In den Versuchen mit der Fettlipoidbestimmung in der Arteria femoralis, Vena femoralis und rechten Ventrikel ist die Methodik wie folgt: bei dem narkoselosen Hunde wurde die A. und V. femoralis abseperiert und daraus mittels Spritze Blut entnommen; aus dem rechten Ventrikel wurde das Blut durch die Einführung einer langen dünnen Nadel in den dritten Rippenraum längs der L. parasternalis dextra entnommen. Im ganzen wurden 25 Versuche an 14 Hunden ausgeführt. Der allgemeine Zustand der Tiere nach der Splenektomie unterschied sich beinahe von dem der Voroperationsperiode nicht; es kann nur ein gesteigerter Appetit angezeigt werden (was auch in den Arbeiten von *Richet*, *Berezow*, *Prym*, *Bayer* betont wird); bei den nach dem Ende der Versuche getöteten und zwecks Kontrolle der akzessorischen Milzen autoptierten Hunden wurde immer eine ziemlich starke Fettablagung in dem Nierengebiet sowie in dem Omentum gefunden.

III. Statische Veränderungen von Fett und Lipoiden nach der Splenektomie.

Die in der Tabelle I eingeführten Ergebnisse zeigen, daß die Fett- und Lipoidveränderungen in dem peripheren Blute nach der Splenektomie in folgenden bestehen: bei vier Hunden von fünf wird 7 bis 30 Tage nach der Splenektomie eine Neutralfettsteigerung um 44 bis 168% beobachtet; nur bei einem Hunde ist der Neutralfettgehalt im Blute unverändert geblieben. 1 Monat nach der Splenektomie kommt das Niveau des Neutralfettes zur Norm zurück. Da jedoch das Neutralfett bei normalen Hunden ziemlich stark schwankt (s. Mitteilung I), können wir nur über die *Neigung* zur Neutralfettsteigerung im Verlauf des ersten Monats nach Splenektomie sprechen. Was den Gesamtcholesteringehalt im Blute nach der Splenektomie anbetrifft, so wird hier nicht etwas Bestimmtes oder Beständiges konstatiert; so finden wir bei einigen Hunden (Nr. 21, 8, 10) Hypercholesterinämie mit verschiedener Auftretungszeit bei verschiedenen Hunden nach der Splenektomie; bei anderen Hunden (Nr. 6, 22a) wurde Hypercholesterinämie gar nicht beobachtet. Das Cholesterinbild des Blutes nach der Splenektomie stellt das folgende charakteristische Merkmal dar: eine Verschiebung des freien Cholesterins zugunsten des gebundenen mit einer Steigerung des letzteren bis 243—278% in zwei Fällen aus fünf. Als ein beständiges Phänomen erscheint in allen Versuchen nach der Splenektomie eine Zunahme des lipoiden Phosphors in den Grenzen 35 bis 60%; es muß jedoch betont werden, daß diese Zunahme von Lipoid-P nicht immer parallel und proportional der Phosphatidfraktionssteigerung verläuft. Dieser Umstand berechtigt zu der Voraussetzung einer Veränderung der Konstitution der Phosphatidmoleküle.

Also eine Steigerung des Lipoid-P und Cholesterinesters mit ausgedrückter Neigung zur Neutralfettzunahme stellt ein charakteristisches

Tabelle I.

Gehalt an Neutralfett und Lipoiden im peripheren Blute nach Splenektomie.

Nr. des Hundes	Zeittermin nach Splenektomie Tage		Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%
6		Vor Splenektomie	0,048	0,091	0,058	0,149	0,168	6,72
		26. I. 1926. Splenektomie						
	9	3. II. 1926	0,108	0,013	0,103	0,116	0,228	9,80
	14	8. II. 1926	0,055	0,073	0,052	0,125	0,327	10,0
	21	15. II. 1926	0,098	0,056	0,069	0,125	0,216	9,3
8		Vor Splenektomie	0,091	0,061	0,046	0,107	0,252	8,34
		25. II. 1926. Splenektomie						
	18	13. III. 1926	0,093	0,083	0,076	0,159	0,285	9,58
	38	3. IV. 1926	0,075	0,093	0,070	0,163	0,240	11,32
	67	29. IV. 1926	0,100	0,049	0,158	0,207		
10		Vor Splenektomie	0,087	0,063	0,056	0,119	0,384	7,84
		24. III. 1926. Splenektomie						
	30	24. IV. 1926	0,126	0,026	0,092	0,118		11,3
	78	11. VI. 1926	0,116	0,066	0,086	0,152	0,471	12,6
21		Vor Splenektomie	0,054	0,073	0,056	0,129		12,7
		15. V. 1926. Splenektomie						
	19	3. VI. 1926	0,145	0,082	0,212	0,294		18,2
22a		Vor Splenektomie	0,056	0,052	0,040	0,092		
		24. III. 1927. Splenektomie						
	7	1. IV. 1927	0,090	0,030	0,065	0,095		
1		Vor Splenektomie	0,062	0,068	0,056	0,124		
		2. VI. 1925. Splenektomie						
	180	4. XII. 1926	0,088	0,050	0,052	0,102		

Kennzeichen für den Fett- und Lipoidblutspiegel nach der Splenektomie dar; diese Veränderungen kommen zur Beobachtung während 6 Monate nach der Milzexstirpation; nachher kehrt das Fett- und Lipoidniveau des Blutes zur Norm zurück.

Wie in den vorherigen Mitteilungen gezeigt wurde, erscheint das statische Bild von Fett und Lipoiden als ungenügend, um auf die Veränderungen des Fett- und Lipoidstoffwechsels zu schließen, indem der Fett- und Lipoidgehalt des Blutes in der Norm ziemlich stark variiert. Nur bei der Belastung, welche gesteigerte funktionelle, mit Resorption, Elimination und Metabolie von Fett und Lipoiden verbundene Elemententätigkeit hervorruft, können merkliche Abweichungen dieser Prozesse auftreten. Die Versuche mit der Belastung der splenektomierten Tiere mittels Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin erlauben eine klarere Deutung der Veränderungen des Fett-Lipoidstoffwechsels, welche nach Milzexstirpation auftreten.

IV. Alimentäre Lipämie und Lipoidämie bei splenektomierten Hunden.

Bei dem Vergleich der alimentären Lipo-Lipoidämie bei Belastung mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin vor und nach der Splenektomie (Tabellen II, III) können folgende Veränderungen in deren Verlauf und Typus festgestellt werden.

Tabelle II.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%	Erythrocyten
Hund Nr. 8, Gewicht 14,2 kg.							
24. II. 1926. Präform. . .	0,091	0,061	0,046	0,107	0,252	8,34	5,750 000
5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
3 Std. nach der Einführ.	0,143	0,032	0,093	0,125	0,252	8,35	
5 „ „ „ „	0,093	0,100	0,046	0,146	0,276	8,78	5,700 000
7 „ „ „ „	0,160	0,056	0,044	0,100	0,303	9,20	
24 „ „ „ „	0,095	0,068	0,048	0,116	0,276	8,40	
25. II. 1926. Splenektomie.							
13. III. 1926. Präform. . .	0,093	0,083	0,076	0,159	0,285	9,58	4,890 000
5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
3 Std. nach der Einführ.	0,214	0,080	0,075	0,155	0,312	10,78	
5 „ „ „ „	0,204	0,167	0,075	0,242	0,480		5,000 000
7 „ „ „ „	0,302	0,075	0,058	0,123	0,360	12,22	
24 „ „ „ „	0,076	0,135	0,148	0,281		10,20	
Hund Nr. 10, Gewicht 11,3 kg.							
19. III. 1926. Präform. . .	0,087	0,063	0,060	0,123		7,9	4,920 000
100,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
3 Std. nach der Einführ.	0,098	0,051	0,060	0,111			
5 „ „ „ „	0,168	0,063	0,060	0,123		8,37	5,120 000
7 „ „ „ „	0,065	0,095	0,085	0,180		9,2	
24 „ „ „ „	0,092	0,071	0,070	0,141		8,1	
24. III. 1926. Splenektomie.							
24. IV. 1926. Präform. . .	0,126	0,026	0,092	0,118	0,286	11,3	4,810 000
100,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
3 Std. nach der Einführ.	0,300	0,014	0,120	0,134	0,321	12,0	
5 „ „ „ „	0,158	0,111	0,154	0,265		12,5	
7 „ „ „ „	0,345	0,101	0,140	0,241	0,360	13,0	5,080 000
24 „ „ „ „	0,126	0,018	0,084	0,102	0,318		
Hund Nr. 1, Gewicht 7,5 kg.							
12. V. 1925. Präform. . .	0,062	0,068	0,056	0,124	0,235		
80,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
1½ Std. nach der Einführ.	0,074	0,040	0,081	0,121	0,265		
3 „ „ „ „	0,120	0,082	0,082	0,164	0,268		
5 „ „ „ „	0,146	0,066	0,070	0,136	0,292		
2. VI. 1925. Splenektomie.							
22. X. 1925. Präform. . .	0,075	0,048	0,065	0,113	0,279		
50,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
1½ Std. nach der Einführ.	0,121	0,042	0,086	0,128	0,308		
3 „ „ „ „	0,186	0,069	0,116	0,185	0,365		
5 „ „ „ „	0,202	0,172	0,066	0,238	0,273		

Tabelle II (Fortsetzung).

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%	Erythrocyten
4. XII. 1925. Präform. . .	0,088	0,050	0,072	0,122	0,250		
80,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
$1^1/_2$ Std. nach der Einführ.	0,175	0,050	0,081	0,131	0,313		
3 „ „ „ „	0,300	0,207	0,090	0,297	0,272		
5 „ „ „ „	0,270	0,211	0,086	0,297	0,292		
7 „ „ „ „	0,239	0,160	0,098	0,258	0,314		
24 „ „ „ „	0,085	0,050	0,096	0,146	0,259		
Hund Nr. 22a, Gewicht 10 kg.							
22. III. 1927. Präform. . .	0,056	0,052	0,040	0,092	0,198	7,2	5,850 000
5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
5 Std. nach der Einführ.	0,040	0,076	0,061	0,137	0,262	8,3	5,920 000
24. III. 1927. Splenektomie.							
1. IV. 1927. Präform. . .	0,090	0,030	0,065	0,095	0,202	9,1	4,920 000
5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivarum per os eingeführt.							
5 Std. nach der Einführ.	0,284	0,052	0,092	0,148	0,295	10,8	4,980 000

Tabelle III.

Alimentäre Lipo-Lipoidämie vor und nach der Splenektomie.

Nr. des Hundes	Art der Belastung	Maximale Steigerung des Neutralfettes		Maximale Steigerung des Cholesterins		Zeittermin nach Splenektomie
		vor der Splenektomie auf %	*nach* der Splenektomie auf %	*vor* der Splenektomie auf %	*nach* der Splenektomie auf %	Tage
1	80,0 Ol. olivarum	135	241	32,5	143	180
1	50,0 Ol. olivarum		169		110,6	140
1	1,5 g Cholest. + 20,0 Ol. olivarum		418		143	196
8	5 g Cholest. + 100,0 Ol. olivarum	75,8	224	36,4	76,7	18
10	100,0 Ol. olivarum . . .	93,1	173	46,3	124	30
10	5 g Cholest. + 100,0 Ol. olivarum		192		200	32
22a	5 g Cholest. + 100,0 Ol. olivarum	− 35	+ 215	46,8	55,7	7

A. Nach der Splenektomie ist die *Neutralfett*zunahme stärker ausgedrückt, und zwar: während vor der Splenektomie das Maximum der Neutralfettsteigerung im Blute zwischen 75 bis 135% schwankt, steigt bei milzlosen Hunden der Neutralfettgehalt auf 169 bis 417%; diese scharf ausgedrückte alimentäre Hyperlipämie kommt auch lange Zeit (6 Monate) nach der Splenektomie zur Beobachtung. Außerdem wird bei den splenektomierten Tieren keine bei normalen Hunden bei Verabreichung mittlerer Dosen Olivenöls (s. Mitteilung I) übliche hypolipämische Phase beobachtet. Die Verlaufsdauer der alimentären Lipämie bei milzlosen Hunden ist dieselbe, wie vor der Splenektomie (Abb. 1, 2, 3).

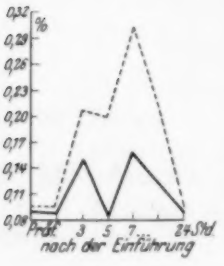


Abb. 1.
Neutralfettblutspiegel beim Hunde Nr. 8 bei Belastung per os mit 5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Splenektomie.
– – – Nach der Splenektomie (18 Tage).

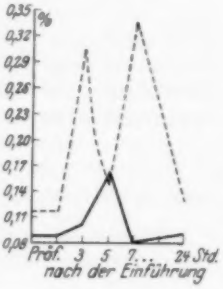


Abb 2.
Neutralfettblutspiegel beim Hunde Nr. 10 bei Belastung per os mit 100,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Splenektomie.
– – – Nach der Splenektomie (30 Tage).

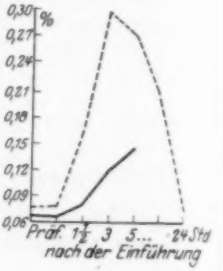


Abb. 3.
Neutralfettblutspiegel beim Hunde Nr. 1 bei Belastung per os mit 80,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Splenektomie.
– – – Nach der Splenektomie (180 Tage).

B. Nach der Splenektomie steigt der *Cholesteringehalt* (freies und gebundenes) gewöhnlich stärker, als vor der Splenektomie. Diese alimentäre Hypercholesterinämie wird jedoch nicht immer und nicht bei allen splenektomierten Tieren beobachtet; während die Belastung mit Cholesterin + Olivenöl beständig eine größere Hypercholesterinämie zur Folge hat, ruft die Belastung nur mit Olivenöl bzw. Oleinsäure bzw. Lecithin allein oft, jedoch nicht immer, eine geringere Hypercholesterinämie hervor. Es muß eine größere Neutralfettzunahme bei Belastung mit Cholesterin + Olivenöl, als bei Belastung mit Olivenöl allein (Tabelle III, Hund Nr. 1 und 10) bei splenektomierten Hunden betont werden.

C. Die Veränderungen des *Lipoid-P* (bzw. der Phosphatidfraktion) bei Belastung mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin bzw. Lecithin nach der Splenektomie variieren in denselben Grenzen, wie vor der Operation.

In unserer vorherigen Untersuchung[1]) wurde gezeigt, daß die r.-e. Milzelemente eine wichtige Rolle in den Eliminationsprozessen des Neutralfettes aus dem Blute spielen; die nach der Splenektomie beobachtete ge-

[1]) *S. Leites*, Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel, IV. Mitteilung. diese Zeitschr. **186**, 391, 1927.

steigerte alimentäre Hyperlipämie kann mit dem Ausfall dieser Milzfunktion verbunden werden. Das letztere wird durch den folgenden Versuch mit intravenöser Einführung von Olivenölemulsion bestätigt:

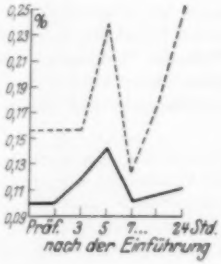


Abb. 4.
Cholesterinblutspiegel beim Hunde Nr. 8 bei Belastung per os mit 5 g Cholesterin + 100,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Splenektomie.
--- Nach der Splenektomie (18 Tage).

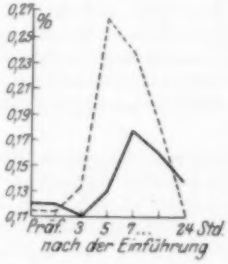


Abb. 5.
Cholesterinblutspiegel beim Hunde Nr. 10 bei Belastung per os mit 100,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Splenektomie.
--- Nach der Splenektomie (30 Tage).

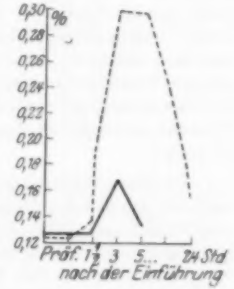


Abb. 6.
Cholesterinblutspiegel beim Hunde Nr. 1 bei Belastung mit 80,0 Ol. olivarum.
—— Vor der Splenektomie.
--- Nach der Splenektomie (180 Tage).

Hund 14a. Gewicht 14 kg. 14. Dezember 1926 wurde in V. jugularis 10 ccm 10% Olivenölemulsion (in 1% $NaHCO_3$) eingeführt.

Vor der Injektion	Neutralfett %	20 Min. nach der Injektion	Neutralfett %
Arteria femoralis	0,075	Arteria femoralis	0,040
Vena femoralis	0,061	Vena femoralis	0,046

21. Dezember 1926. *Splenektomie.*

31. Dezember 1926 wurde in V. jugularis 10 ccm 10% Olivenölemulsion eingeführt.

Vor der Injektion	Neutralfett %	20 Min. nach der Injektion	Neutralfett %
Arteria femoralis	0,100	Arteria femoralis	0,182
Vena femoralis	0,105	Vena femoralis	0,164

Der angeführte Versuch zeigt, daß, während die Einführung der Olivenölemulsion vor der Splenektomie eine Hypolipämie hervorruft, deren Genese der Hypocholesterinämie nach endovenöser Einverleibung kolloidaler Substanzen bzw. Emulsionen gleich und von uns in der vorherigen Mitteilung beschrieben ist, dieselbe nach Splenektomie einen Zuwachs des Neutralfettes auf 82% ausführt.

Die nach der Milzexstirpation zur Beobachtung kommende gesteigerte alimentäre Hypercholesterinämie wird durch die Abwesenheit der Milz bedingt, indem unsere vorherigen Untersuchungen bezüglich des Cholesteringehalts in der A. und V. lienalis gezeigt haben, daß in der Milz das endogene Cholesterin eliminiert wird; die von uns oben betonte Unbeständigkeit dieses Phänomens steht scheinbar mit der Tatsache im Zusammenhang, daß laut unseren vorherigen Arbeiten (Mitteilung I und II) in der Milz nicht nur Cholesterinelimination, sondern auch dessen Zuwachs stattfindet. Die verschiedenartige alimentäre Hypercholesterinämie bei verschiedenen Hunden wird durch den Ausfall der algebraischen Summe dieser Prozesse bedingt.

Die Zusammenfassung unserer Ergebnisse berechtigt uns zu dem Schluß, daß der Ausfall der Milz, in welcher Neutralfett- und Cholesterinelimination stattfindet, als eine der Ursachen der nach Splenektomie auftretenden gesteigerten alimentären Hyperlipämie und Hypercholesterinämie erscheint. Ist die Teilnahme der Milz im Fett- und Lipoidstoffwechsel nur auf diese lokalen Prozesse begrenzt, oder sind auch Prozeßstörungen von Fett-Lipoidstoffwechsel in anderen Organen in der Genese der alimentären Hyperlipolipoidämie nach Milzentfernung von Bedeutung? Um diese Frage aufzuklären, haben wir Versuche mit Bestimmung von Fett- und Lipoiden im arteriellen und venösen Blute verschiedener Gebiete bei splenektomierten Tieren nach Fettbelastung unternommen.

V. Die Fett- und Lipoidverteilung in der Arterie und den Venen einzelner Gebiete bei splenektomierten Hunden vor und nach der Fettbelastung.

Unsere vorherigen Untersuchungen (Mitteilungen I, II, III) zeigten, daß bei der Belastung normaler Hunde mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin eine scharf ausgedrückte Verminderung des Neutralfettes mit parallel verlaufendem Cholesterinzuwachs in der V. hepatica gegenüber der Arterie und V. porta beobachtet wird. Laut den Versuchsergebnissen der Tabellen V und VI *wird bei den splenektomierten Hunden keine Neutralfettabnahme in der V. hepatica konstatiert.* Durch diese abwesende Neutralfettsenkung in der V. hepatica der splenektomierten Tiere muß die starke Steigerung des Neutralfettes im rechten Ventrikel nach der Splenektomie (Versuch in der Tabelle IV) erklärt werden, indem diese Steigerung stark gegenüber Vena femoralis prävaliert und nicht auf die Rechnung des durch den ductus thoracicus eingetretenen Neutralfettes laut unseren früheren Untersuchungen (Mitteilungen I, II) bezogen werden kann. Auch die Tatsache, daß die „Blockade" des r.-e. Systems mit Solargentum, die, wie wir gezeigt haben (Mitteilung IV), die Absorptionsfähigkeit des r.-e. Systems bezüglich des Neutralfettes steigert, den Neutralfettgehalt bei der Belastung in dem rechten Ventrikel zu seinem normalen Niveau wiedergibt, spricht dafür, daß der Neutralfettzuwachs im rechten Ventrikel bei Belastung nach Splenektomie eine Folge dessen fehlende Senkung in der V. hepatica darstellt. Die Milzentfernung hat somit eine Funktionsveränderung der Leber im Sinne der Senkung der Elimination und möglicherweise auch Spaltung des Neutralfettes zur Folge.

Was das Cholesterin anbetrifft, muß betont werden, daß sein Gehalt in der V. femoralis keine Veränderung gegenüber demselben in der Arterie nach der Splenektomie leidet; sowohl vor der Splenektomie als auch nach derselben bleibt der Cholesteringehalt in der V. femoralis nicht niedriger

Tabelle IV.

Hund Nr. 22a, Gewicht 10,0 kg.

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%
22. III. 1927 wurden per os 5 g Cholesterin in 100,0 Ol. olivarum eingeführt.						
Vor der Einführung:						
Rechter Ventrikel	0,060	0,053	0,029	0,082	0,315	9,0
Arteria femoralis	0,068	0,020	0,037	0,057	0,232	7,0
Vena femoralis	0,061	0,045	0,043	0,088	0,321	8,2
5 Std. nach der Einführung:						
Rechter Ventrikel	0,047	0,073	0,081	0,154	0,322	9,2
Arteria femoralis	0,054	0,062	0,054	0,116	0,251	8,6
Vena femoralis	0,060	0,055	0,091	0,146	0,293	9,0
24. III. 1927 Splenektomie.						
1. IV. 1927 wurden per os 5 g Cholesterin in 100,0 Ol. olivarum eingeführt.						
Vor der Einführung:						
Rechter Ventrikel	0,075	0,059	0,039	0,098	0,324	10,0
Arteria femoralis	0,114	0,011	0,070	0,081	0,240	9,2
Vena femoralis	0,098	0,034	0,064	0,098	0,286	9,4
5 Std. nach der Einführung:						
Rechter Ventrikel	0,350	0,046	0,105	0,149	0,334	10,4
Arteria femoralis	0,260	0,070	0,181	0,151	0,264	10,0
Vena femoralis	0,254	0,057	0,094	0,151	0,304	8,9
Vom 1. IV. bis 5. IV. wurden intravenös 40 ccm Solargentum (*Squibb*) eingeführt. 5. IV. 100,0 Ol. olivarum per os.						
Vor der Einführung:						
Rechter Ventrikel	0,129	0,012	0,073	0,085	0,260	10,4
Arteria femoralis	0,133	0,026	0,061	0,087	0,222	10,3
5 Std. nach der Einführung *)						
Rechter Ventrikel	0,116	0,024	0,057	0,081	0,243	11,0
Arteria femoralis	0,149	0,086	0,025	0,111	0,276	10,8

*) Nach der Blutentnahme wurde der Hund getötet; Chylusgefäße gefüllt, milchweiß.

als in der Arterie (Tabellen IV und VI). Im Gegensatz zu normalen Hunden ist der Cholesteringehalt in der V. hepatica im Vergleich zu der V. porta und Arterie nicht gesteigert, was mit der Abwesenheit des Neutralfettrückfalls (s. Mitteilung I) zusammengebunden werden muß. Es muß weiter betont werden, daß die Fähigkeit der Lungen, das Neutralfett zurückzuhalten, bei der Belastung nach der Splenektomie zunimmt, und keine Cholesterinverminderung in der Arterie im Vergleich zum rechten Ventrikel (Tabelle IV) stattfindet.

Tabelle V.

Hund Nr. 10, Gewicht 11,3 kg.

24. März 1926 Splenektomie. 11. April 1926, 9 Uhr 20 Minuten wurden per os 5 g Cholesterin in 100,0 Ol. olivarum per os eingeführt; 2 Uhr: 10 ccm 2% Morphii sulf. subkutan; 2 Uhr 15 Minuten: Äthernarkose; 2 Uhr 20 Minuten: Laparotomie; Blut entnommen aus:

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %	„Phosphatide" %	Lipoider P mg-%
Arteria femoralis	0,181 (0,70)	0,120 (0,38)	0,129 (0,40)	0,249 (0,78)	0,372 (1,3)	10,9
Vena porta	0,214 (0,86)	0,212 (0,77)	0,070 (0,27)	0,282 (1,04)	0,537 (2,02)	
Vena hepatica	0,203 (0,79)	0,127 (0,38)	0,075 (0,29)	0,202 (0,67)	0,594 (1,84)	12,5

Anmerkung I. Chylusgefäße gefüllt, milchweiß.

Anmerkung II. Die Ziffern in Klammern zeigen die Fett- bzw. Lipoidmenge auf festem Rückstand berechnet.

Tabelle VI.

Hund Nr. 8, Gewicht 14,2 kg.

25. Februar 1926 Splenektomie. 29. April 1926, 10 Uhr 15 Minuten wurden per os 5 g Cholesterin in 100,0 Olivenöl eingeführt; 2 Uhr 55 Minuten: subkutan 10 ccm 2% Morph. sulf.; 3 Uhr 5 Minuten: Äthernarkose; 3 Uhr 15 Minuten: Laparotomie; Blut entnommen aus:

	Neutralfett %	Freies Cholesterin %	Gebundenes Cholesterin %	Gesamt-Cholesterin %
Arteria femoralis	0,209	0,051	0,191	0,242
Vena femoralis	0,196	0,065	0,200	0,265
Vena hepatica	0,192	0,102	0,144	0,246
Vena porta	0,194	0,091	0,135	0,226

Chylusgefäß gefüllt, milchweiß.

VI. Diskussion der Versuchsergebnisse.

Die charakteristische, nach Splenektomie beobachtete Erscheinung — eine gesteigerte, die normale weit übertreffende, ohne hypolipämische Phase verlaufende und am stärksten eine lange Zeit nach Milzentfernung auftretende alimentäre Hyperlipämie — kann laut unseren Ergebnissen als Folge von zwei Faktoren betrachtet werden: einerseits ist dieses Phänomen ein Resultat der Milzabwesenheit, d. h. eines Organs, in welchem Neutralfettelimination stattfindet; die Blockierungsversuche (Mitteilung IV) beweisen den Zusammenhang dieses Prozesses mit den r.-e. Elementen. Andererseits wird die gesteigerte alimentäre

Hyperlipämie nach der Splenektomie durch die dabei auftretende Funktionsveränderung der Leber im Sinne einer Abnahme von Neutralfettelimination bzw. -spaltung bedingt; diese Tatsache wird von *Kobayashi* (unter *Asher*) bestätigt, indem er eine spezifische, aktivierende Wirkung des Milzextrakts auf die Acetonbildung in der isolierten Leber festgestellt hat. Es muß auch bemerkt werden, daß die Abnahme der Adsorptionskraft der Leber gegenüber Lebertranfett nach Splenektomie von *Joannovicz* und *Pick* festgestellt worden ist. Erscheint die Funktionsstörung der Leber hinsichtlich der Neutralfettelimination bzw. -spaltung nach der Splenektomie als Folge eines Ausfalls der extracellulären, inkretorischen Milzfunktion? Ohne diese Möglichkeit abzulehnen, können wir auf Grund unserer Ergebnisse in anderer Weise die Ursachen der Funktionsveränderungen der Leber deuten.

Schon in der I. Mitteilung über die Neutralfettverteilung im Venenblut verschiedener Gebiete wurde darauf hingewiesen, daß die Verhältnisse zwischen Neutralfett der V. lienalis und demjenigen der V. hepatica umgekehrt proportional erscheinen, und zwar: eine scharf ausgedrückte Neutralfettabnahme in der V. hepatica findet dann statt, wenn eine Steigerung des Neutralfettes in der V. lienalis im Vergleich zur Arterie und zu anderen Venen, wobei der Neutralfettgehalt in der letzteren immer geringer als in der Arterie ist, konstatiert wird. Dabei wurde auch gezeigt, daß diese Neutralfettsteigerung in der V. lienalis mit Cholesterinzurückhaltung in der Milz verbunden ist. Mit anderen Worten, nur das endogene, aus der Milz entstandene Neutralfett der Elimination bzw. Spaltung in der Leber unterliegt. Nach der Splenektomie, d. h. nach dem Ausfall des Organs der endogenen Zunahme von Neutralfett, wird keine Spaltung desselben durch die Leber bzw. keine Abnahme in der V. hepatica beobachtet. Unsere Untersuchungen berechtigen zu der folgenden (etwas schematischen) Darstellung des Neutralfettzyklus im Organismus bei der Fettbelastung: das exogene Fett, indem dasselbe teilweise in der Darmwand und teilweise in den Lungen zur Resynthese gelangt, wird in den Geweben und Organen, hauptsächlich in dem sogenannten Unterhautzellgewebe zurückgehalten; hier wird das Fett teilweise gespeichert, andererseits vielleicht metabolisiert, wobei der letzte Prozeß, wie in der vorherigen Mitteilung gezeigt wurde, scheinbar mit den r.-e. Elementen des Knochenmarks verbunden ist. Das dabei endogen entstandene Cholesterin hat bei der Zurückhaltung in der Milz eine Zunahme des endogenen Neutralfetts zur Folge; das letztere wird beim Eintritt in die Leber eliminiert bzw. gespalten. Nach der Splenektomie fällt sowohl die Neutralfettzurückhaltung in der Milz als auch dessen Elimination und Spaltung in der Leber aus; als Resultat wird eine gesteigerte

Ablagerung des Fettes in den Depots, was, wie oben erwähnt, bei der Autopsie der splenektomierten Tiere zur Beobachtung kommt, konstatiert. Als Folge dieser Stoffwechselstörung des Neutralfettes kann die nach der Splenektomie beobachtete Zunahme der Cholesterinester und lipoiden P im Blute betrachtet werden; die Rolle der letzteren in der intermediären Regulierung des Fettstoffwechsels wird von *Wacker* und *Hueck*, *Bloor*, *Leathes* betont. Was nun andere Faktoren anbetrifft, welche in der Genese der gesteigerten alimentären Hyperlipämie nach der Splenektomie eine Bedeutung haben können, und zwar: Störung von Oxydationsprozessen, bzw. Gasstoffwechsel, sowie Verdauungsstörung, so kann deren Teilnahme abgelehnt werden. So fand *Verzar* keine Gasstoffwechselveränderung bei splenektomierten Hunden, *Peracchia* konnte bei splenektomierten Hunden keine Abnahme des Grundumsatzes konstatieren; derselbe betont dagegen bei einem Teile der Versuchshunde eine Zunahme um 12 bis 16%. Hinsichtlich des Einflusses der Milzexstirpation auf die Verdauung wird die alte Lehre von *Schiff* und *Herzen* über den Einfluß der Splenektomie auf die Tätigkeit der Verdauungsfermente durch die Arbeiten von *Ewald*, *Popielski*, *Prym* abgelehnt. Desgleichen kommt *Mollow* in seiner Arbeit zu dem Schluß: „Meine mit vollkommenster Methodik ausgeführten Versuche haben also durchaus keinen Einfluß der Milz auf die Verdauungsorgane erkennen lassen: ich hoffe, daß damit die alte Fabel endlich aus der Literatur verschwindet." Wie oben erwähnt, ist die Dauer der alimentären Lipo-Lipoidämie bei unseren Versuchstieren vor und nach der Splenektomie gleich; es wird nur deren Höhe und Charakter gewechselt. Die gesteigerte alimentäre Hyperlipämie nach der Splenektomie ist auch nicht mit der Erythrocytenmenge verbunden; die Tabelle II zeigt, daß die genannte Hyperlipämie bei derselben Erythrocytenmenge wie auch vor der Splenektomie eintritt.

Die Cholesterinveränderungen bei splenektomierten Hunden stellen ein Gesamtbild von folgenden zwei Prozessen dar: einerseits bedingt die Milzabwesenheit, worin die Zurückhaltung des endogenen Cholesterins stattfindet, eine gesteigerte Hypercholesterinämie; andererseits kann in der Milz laut vorherigen Mitteilungen auch Cholesterinzunahme stattfinden; außerdem vermindert die Milzexstirpation durch die Störung der Neutralfettelimination bzw. -spaltung Cholesterinzunahme in der V. hepatica, wodurch eo ipso unsere früheren Schlüsse bestätigt werden, und zwar, daß die Cholesterinzunahme in der V. hepatica mit der Neutralfettverminderung in derselben in Zusammenhang steht. Der Einfluß der Splenektomie auf das Cholesterinblutbild stellt somit zwei entgegengesetzt dabei auftretende Prozesse dar: eine Abnahme der Cholesterinzurückhaltung, sowie Abwesenheit von Cholesterinzunahme

in V. hepatica[1]). Eben diese Tatsache bedingt die Unbeständigkeit der Hypercholesterinämie nach Splenektomie. Im Gegensatz zu den Angaben von *Abelous* und *Soula* haben wir keinen Einfluß der Milzexstirpation auf Cholesterinbildung in Geweben außer der Leber konstatieren können; es wird dagegen eine Abwesenheit von Cholesterinabnahme in dem arteriellen Blute nach der Splenektomie beobachtet, was sowohl mit einer größeren Zurückhaltung des Neutralfettes in der Lunge als auch mit Cholesterinzunahme in derselben in Verbindung steht; die Einzelheiten darüber werden in unseren folgenden Mitteilungen dargestellt.

Schlußfolgerungen.

1. Nach der Splenektomie tritt bei den Hunden eine Zunahme des gebundenen Cholesterins und des Lipoid-P im Blute, welche nicht länger als 6 Monate dauert, auf.

2. Belastung per os mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin führt bei splenektomierten Hunden zu einer bedeutenderen Neutralfettsteigerung im peripheren Blute als vor der Splenektomie; die Dauer der alimentären Lipo-Lipoidämie ist dieselbe, wie bei normalen Hunden.

3. Belastung per os mit Olivenöl bzw. Olivenöl + Cholesterin hat gewöhnlich bei splenektomierten Hunden eine größere Hypercholesterinämie als vor der Splenektomie zur Folge; dieselbe kommt jedoch nicht immer und nicht bei allen Hunden zur Beobachtung.

4. Die intravenöse Einführung der Olivenölemulsion ruft bei den splenektomierten Hunden eine vor der Splenektomie nicht zur Beobachtung kommende Neutralfettsteigerung im Blute hervor.

5. Die splenektomierten Hunde zeigen gegenüber den normalen keine Neutralfettabnahme und parallele Cholesterinsteigerung in der V. hepatica bei der Belastung; im arteriellen Blute (im Vergleich zum rechten Ventrikel) wird keine so scharfe Cholesterinverminderung wie bei normalen Hunden beobachtet.

6. Die gesteigerte alimentäre Hyperlipämie bei splenektomierten Hunden erscheint als Resultat der Milzabwesenheit, eines Organs, im welchem die Neutralfettelimination stattfindet, sowie auch einer Störung der Neutralfettelimination bzw. -spaltung in der Leber.

7. Die gesteigerte alimentäre Hypercholesterinämie bei splenektomierten Tieren ist eine Folge der Abnahme normal in der Milz auftretender Elimination des endogenen Cholesterins, sowie ein Resultat der gesteigerten Cholesterinzunahme im arteriellen Blute bzw. in den Lungen.

---

[1]) Dasselbe wird auch hinsichtlich des Gallencholesterins bestätigt; hiervon in einer weiteren Mitteilung.

8. Die Versuche an splenektomierten Hunden bestätigen die Ergebnisse der vorhergehenden Mitteilungen, und zwar, daß in der Milz sowohl Cholesterinzurückhaltung als auch seine Zunahme stattfindet, und betonen den Zusammenhang der Cholesterinzunahme in der V. hepatica mit der Zurückhaltung bzw. Spaltung des Neutralfettes in der Leber.

Literatur.

Abelous, Laporte, Soula, C. r. de la Soc. de Biol. **83**, 1920; **93**, 1925; Arch. intern. d. phys. **18**, 1921. — *Beumer*, Deutsch. med. Wochenschr. 1925, Nr. 6. — *Beresow*, Nov. chirurg. Arch. **19/20**, 1924 (russisch). — *Beyer*, zitiert nach *Beresow*. — *Gardner* und *Fox*, zitiert nach Oppenheimers Handb. d. Biochem. **8**, 1925. — *Joannovicz* und *Pick*, Verh. d. Deutsch. Pathol. Gesellsch. **14**, 1910. — *Köszeg*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **101**, 1924. — *Kobayashi*, diese Zeitschr. **151**, 1924. — *Mollow*, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. phys. Chem. **117**, 1921. — *Okuneff*, Zieglers Beitr. **71**, 1923. — *Peracchia*, ref. Münch. med. Wochenschr. 1926, Nr. 41. — *Prym*, Pflügers Arch. **104**, 1904. — *Popielski*, Russky Wratsch 1901, Nr. 5. — *Richet*, Journ. de physiol. et pathol. gén. **14**, 1912; **15**, 1913. — *Seu*, Kongreßbl. f. inn. Med. **45**, H. 5, 1927. — *Siegmund*, Virchows Arch. **224**. — *Soper*, Zieglers Beitr. **60**. — *Sotti* und *Torre*, zitiert nach Oppenheimers Handb. d. Biochem. — *Verzar*, diese Zeitschr. **53**, 69, 1913. — Andere Literaturangaben s. frühere Mitteilungen.

Über den „Oxydationsquotienten".

Von

Helmut Müller (1).

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Königsberg.)

(Eingegangen am 1. Mai 1927.)

Die Stickstoffbestimmung im Harn gibt uns einen Maßstab für die Umsetzungen der stickstoffhaltigen Substanzen im Organismus, da wir wissen, daß weitaus der größte Teil des Stickstoffs durch den Harn zur Ausscheidung gelangt. Sie gewährt aber keinen Anhalt dafür, wieweit diese Körper verbrannt sind, und vor allem führt sie nicht zum Ziele, wenn wir über die Verbrennbarkeit der stickstofffreien Stoffe im Tierkörper Aufschluß suchen. Wir müssen die Bestimmung des Kohlenstoffgehalts des Harns zu Hilfe nehmen.

Brauchbar sind solche Untersuchungen natürlich nur, wenn die Ausscheidung des Kohlenstoffs und Stickstoffs unter konstanten Verhältnissen einen gleichmäßigen Verlauf nimmt. Daß diese Bedingung für den Stickstoff erfüllt ist, ist allgemein bekannt.

Für den Kohlenstoff hat zuerst *Rubner* (2) eingehende Untersuchungen angestellt, der das Verhältnis C : N (den sogenannten Kohlenstoffquotienten) im Harn unter verschiedenen Bedingungen eingehend geprüft hat. Er hat gefunden, daß dieses Verhältnis zwar individuellen Schwankungen unterworfen, bei ein und demselben Individuum aber außerordentlich konstant ist; vorausgesetzt natürlich, daß die Ernährung eine gleichmäßige ist. Er fand bei Hunden als Durchschnittszahlen für den hungernden Organismus die Relation C : N zu 0,75, bei reiner Fleischkost 0,61, bei Fett- und Kohlehydratnahrung 0,72. Diese Werte sind später mehrfach nachgeprüft und bestätigt worden.

Würden alle organischen Substanzen im Tierkörper vollkommen verbrannt werden, so würden die stickstofffreien vollständig zu Kohlensäure und Wasser abgebaut, es würden durch sie keine kohlenstoffhaltigen Verbindungen in den Harn gelangen. Die stickstoffhaltigen Körper würden neben Kohlensäure und Wasser nur Harnstoff liefern; der Kohlenstoffquotient des Harns müßte also dem des Harnstoffs gleich sein.

Dieser beträgt 0,43. Es gelingt aber durch keine Art der Ernährung, den Quotienten auf diese Zahl hinunterzudrücken. Den niedrigsten Wert haben wohl *Frank* und *Trommsdorff* (3) erreicht, die bei einem mit aus-

gelaugtem Fleisch, also fast reiner Eiweißkost, gefütterten Hund ein Verhältnis C : N von 0,48 fanden. Gewöhnlich weicht der Wert, wie *Rubners* Zahlen zeigen, recht erheblich davon ab, es werden also wesentliche Mengen nicht vollständig oxydierter Substanzen ausgeschieden. Das sind vor allem Harnsäure, Kreatinin, Oxyproteinsäuren, gepaarte Schwefel- und Glucuronsäuren, neben denen die übrigen organischen Bestandteile des Harns zurücktreten. Den Kohlenstoff und Stickstoff dieser nicht maximal oxydierten Verbindungen bezeichnet *Spiro* (4) als „dysoxydablen Kohlenstoff bzw. Stickstoff".

In neuester Zeit hat *Bickel* (5) die Bestimmung des Kohlenstoffquotienten in größtem Umfang wieder aufgenommen und dessen Verhalten bei den verschiedenartigsten physiologischen und pathologischen Zuständen untersucht. Er hat dabei unter anderem gefunden, daß bei vitaminfreier Ernährung der Quotient stark ansteigt, die Ausscheidung dysoxydablen Kohlenstoffs vermehrt ist. Er bezeichnet eine solche Steigerung des Kohlenstoffquotienten als „dysoxydative Carbonurie", weil sie auf eine Störung der Oxydationsvorgänge im Organismus hinweist.

Von anderen Gesichtspunkten geht *Ackermann* aus, der sich ebenfalls kürzlich mit dem Kohlenstoffquotienten beschäftigt hat (6). Er sieht die Frage nicht vom Standpunkt der Stoffwechselbilanz an, die durch den Kohlenstoffquotienten im Gesamtharn zum Ausdruck kommt, sondern betrachtet die einzelnen stickstoffhaltigen Harnbestandteile für sich. Er fragt, warum gerade diese Substanzen als Ausscheidungsprodukte geeignet sind, und findet die Antwort darin, daß der Organismus bei der Ausscheidung des Stickstoffs zwar auf Kohlenstoffverbindungen desselben angewiesen ist, aber möglichst sparsam mit dem Kohlenstoff umgeht, da er das Hauptbrennmaterial darstellt und jede Ausscheidung von Kohlenstoff in anderer Form als Kohlensäure oder, wie wir sehen werden, Harnstoff einen Energieverlust darstellt. Dies kommt in dem Faktor C : N der Harnsubstanzen zum Ausdruck, der außerordentlich niedrig ist. Die harnfähigen Stoffe zeigen fast durchweg einen günstigeren Quotienten als die, die nicht oder nur in sehr geringer Menge im normalen Harn erscheinen (vgl. Tabelle).

Aber die Menge des Kohlenstoffs ist nicht allein maßgebend für den Energieverlust durch den Harn. Damit die Energieersparnis eine möglichst vollständige wird, müssen vielmehr die Stoffwechselschlacken nicht nur im Vergleich zum Stickstoff möglichst wenig Kohlenstoff enthalten, sondern dieser muß auch vor seiner Verwendung zur Ausscheidung des Stickstoffs energetisch möglichst weitgehend ausgenutzt, d. h. oxydiert sein.

Betrachten wir daraufhin die Tabelle von *Ackermann*, so sehen wir, daß im allgemeinen tatsächlich die Körper, die im Vergleich zum Stickstoff am wenigsten Kohlenstoff enthalten, zugleich die am weitesten oxydierten sind. Das trifft aber nicht streng zu, so zeigen z. B. die Werte für Harnsäure und Adenin, daß letzteres ein günstigeres Verhältnis N/C aufweist, obwohl doch die Harnsäure das höher oxydierte Purinderivat darstellt, weshalb sie ja auch das Endprodukt des Purinstoffwechsels bildet. Der Kohlenstoffquotient ist also doch kein genaues Maß für den Oxydationszustand der Harnsubstanzen.

	Formel	1 Molekül		Quotient N / Vakat O	Quotient N : C (nach Ackermann)
		enthält Atome N	nimmt auf Atome O		
Harnstoff	CH_4N_2O	2	0	∞	2,33
Allantoin	$C_4H_6N_4O_3$	4	2	1,751	1,17
Harnsäure	$C_5H_4N_4O_3$	4	3	1,167	0,93
Guanin	$C_5H_5N_5O$	5	4	1,094	1,17
Methylguanidin	$C_2H_7N_3$	3	1	0,875	1,75
Adenin	$C_5H_5N_5$	5	5	0,875	1,17
Xanthin	$C_5H_4N_4O_2$	4	4	0,875	0,93
Hypoxanthin	$C_5H_4N_4O$	4	5	0,700	0,93
Kreatinin	$C_4H_7N_3O$	3	6	0,438	0,88
Arginin	$C_6H_{14}N_4O_2$	4	11	0,318	0,78
Glykokoll	$C_2H_5NO_2$	1	3	0,292	0,58
Histidin	$C_6H_9N_3O_2$	3	10	0,263	0,58
Serin	$C_3H_7NO_3$	1	5	0,175	0,39
Ornithin	$C_5H_{12}N_2O_2$	2	11	0,159	0,47
Alanin	$C_3H_7NO_2$	1	6	0,146	0,39
Asparaginsäure	$C_4H_7NO_4$	1	6	0,146	0,29
Cystin	$C_6H_{12}N_2O_4S_2$	2	13	0,135	0,39
Lysin	$C_6H_{14}N_2O_2$	2	14	0,125	0,39
Oxyglutaminsäure	$C_5H_9NO_5$	1	8	0,109	0,23
Glutaminsäure	$C_5H_9NO_4$	1	9	0,097	0,23
Oxyprolin	$C_5H_9NO_3$	1	10	0,087	0,23
Prolin	$C_5H_9NO_2$	1	11	0,080	0,23
Tryptophan	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	2	23	0,076	0,21
Valin	$C_5H_{11}NO_2$	1	12	0,073	0,23
Leucin	$C_6H_{13}NO_2$	1	15	0,058	0,14
Tyrosin	$C_9H_{11}NO_3$	1	19	0,046	0,13
Phenylalanin	$C_9H_{11}NO_2$	1	20	0,044	0,13

Dagegen erkennen wir sofort die Überlegenheit der Harnsäure über das Adenin als Ausscheidungsprodukt und bekommen ein absolut genaues Maß für die Oxydationsstufe der Harnbestandteile, wenn wir an Stelle des Kohlenstoffs die Menge Sauerstoff bestimmen, welche die Substanz bei vollständiger Verbrennung noch aufzunehmen vermöchte.

Ich bezeichne diese Menge Sauerstoff als „Vakatsauerstoff" und das Verhältnis des ausgeschiedenen Stickstoffs zu diesem als „Oxydationsquotienten".

Zu seiner Berechnung führt folgende Überlegung: Bei den im Tierkörper stattfindenden Abbauvorgängen entstehen als Endprodukte aus Kohlenstoff Kohlensäure, aus Wasserstoff Wasser, Schwefel Schwefelsäure usw., es handelt sich also um Oxydationen, bei denen jedes Element seine Wertigkeiten vollständig mit Sauerstoff absättigt. Der Stickstoff dagegen wird in Ammoniak übergeführt, also nicht oxydiert, sondern reduziert, indem sämtliche Wertigkeiten mit Wasserstoff abgesättigt werden. Wir müssen also von den zur Oxydation von C, H, S usw. verbrauchten Sauerstoffatomen nicht nur die Atome Sauerstoff ab-

ziehen, welche die Substanz schon enthalten hat, sondern auch noch diejenige Menge, die bei der Reduktion des Stickstoffs frei wird.

Wir finden demnach den Vakatsauerstoff, indem wir in der Summenformel einer Verbindung jedes Element mit seiner Wertigkeit multiplizieren, wobei wir C, H, S als positiv, N und O als negativ einsetzen, addieren und (da Sauerstoff zweiwertig) durch zwei dividieren, z. B. Kreatinin, $C_4H_7N_3O$:

$$\begin{array}{rr|rr} C_4: 4\times 4 = & 16 & N_3: 3\times 3 = & 9 \\ H_7: 7\times 1 = & 7 & O: 1\times 2 = & 2 \\ \hline & 23 & & 11 \\ & -11 & & \\ \hline & 12:2=6 & & \end{array}$$

d. h. ein Molekül Kreatinin würde bei vollständiger Verbrennung 6 Atome Sauerstoff aufnehmen, es enthält 3 Atome Stickstoff, der Faktor N: Vakat-O ist mithin $\frac{3\times 14}{6\times 16} = 0{,}438$.

Die fünfte Kolumne der Tabelle zeigt die so errechneten Werte für die Oxydationsquotienten. Betrachten wir wieder das Beispiel der Purinkörper, so zeigt sich nun der Unterschied zwischen Harnsäure und den übrigen Vertretern dieser Klasse deutlich, der durch den Quotienten N/C gar nicht zum Ausdruck kommt (Xanthin, Hypoxanthin) oder gar umgekehrt wird (Adenin, Guanin). Wir sehen nun auch, daß das Methylguanidin, das im Kohlenstoffquotienten gleich hinter dem Harnstoff und weit über Allantoin und Harnsäure steht, in Wahrheit eine energetisch weniger ausgenutzte Substanz darstellt als diese. Auf den ersten Blick erkennt man auch, daß der Harnstoff das ideale Ausscheidungsprodukt ist. Sein Oxydationsquotient ist unendlich, d. h. er läßt sich mit den dem Organismus zur Verfügung stehenden Mitteln gar nicht weiter oxydieren; er kann nur noch durch einfache Wasseraufnahme in Kohlensäure und Wasser gespalten werden:

$$CO\langle^{NH_2}_{NH_2} + H_2O = CO_2 + 2NH_3.$$

Die Bestimmung des Oxydationsquotienten.

Die praktische Bestimmung des Vakatsauerstoffs ist eine recht einfache. Es handelt sich hier um keine neue Methode, sondern im Prinzip nur um die Anwendung einer Methodik, die *Strebinger* (7) — allerdings zu einem anderen Zwecke, nämlich für die Bestimmung des Sauerstoffgehalts organischer Substanzen — angegeben hat.

Es wird dabei die zu untersuchende Substanz bzw. Lösung mit konzentrierter Schwefelsäure nach dem Prinzip der Kjeldahlmethode verbrannt. Dabei entstehen bekanntlich dieselben Endprodukte, die die Verbrennung im Organismus liefert, Kohlendioxyd, Wasser, Ammoniak usw. Der zur Verbrennung nötige Sauerstoff wird nun nicht, wie beim Kjeldahl, aus der Schwefelsäure genommen, sondern aus Kaliumjodat, das dem Verbrennungsgemisch zugefügt wird. Der Vorgang wird durch folgende Gleichung wiedergegeben:

$$6\,KJO_3 + 3\,H_2SO_4 = 3\,K_2SO_4 + 3\,H_2O + 3\,J_2 + 15\,O. \quad (1)$$

Der frei werdende Sauerstoff dient zur Verbrennung der organischen Substanz. Dabei wird nur so viel Sauerstoff frei gemacht bzw. Kaliumjodat zersetzt, wie die zu verbrennende Substanz verbraucht, Kaliumjodat, mit Schwefelsäure allein erhitzt, entwickelt kein Jod. Kennt man die zugesetzte Jodatmenge, so kann man also durch Bestimmung des unverbrauchten Jodats feststellen, wie viel Sauerstoff die unbekannte Substanz zu ihrer Verbrennung gebraucht hat.

Die Ausführung der Bestimmung gestaltet sich folgendermaßen:

In einem Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas von 300 bis 500 ccm Inhalt bringt man die genau abgewogene Menge jodidfreien Kaliumjodats, fügt einige Tropfen Wasser und 20 bis 30 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu und läßt etwa 15 Minuten stehen. Dann schwenkt man leicht um und setzt die zu analysierende Substanz oder Lösung, genau abgewogen bzw. abgemessen, vorsichtig zu. Nun bringt man, ohne zu schwenken, auf das Sandbad unter den Abzug und erhitzt allmählich auf etwa 200°. Unter Freiwerden von Jod erfolgt die Zersetzung der Substanz durch das Kaliumjodat. Die Reaktion ist beendet, wenn keine Entwicklung von Joddämpfen mehr stattfindet. Es hinterbleibt eine gelbliche, völlig klare Lösung. Man läßt erkalten und verdünnt vorsichtig mit Wasser[1]). Dadurch erfolgt die Abscheidung des noch in Lösung gewesenen freien Jods unter Braunfärbung. Dieses vertreibt man durch Auskochen, wobei man sich zur Verhinderung des Spritzens zweckmäßig einer Siedekapillare bedient, läßt wiederum erkalten, überführt die Flüssigkeit in einen 500-ccm-Maßkolben und füllt bis zur Marke auf. Von dieser Lösung verwendet man zweimal je 100 ccm zur Bestimmung des Stickstoffs, indem man in der beim Kjeldahl üblichen Weise mit starker Natronlauge alkalisch macht und in n/10 Schwefelsäure überdestilliert. Zwei weitere Proben von je 100 ccm dienen zur Bestimmung des unverbrauchten Kaliumjodats durch Titration mit Thiosulfatlösung (8).

[1]) Danach muß gut umgeschwenkt werden, um gute Mischung des Wassers mit der Schwefelsäure zu erzielen, da sonst beim späteren Erhitzen die Flüssigkeit leicht stößt und spritzt.

Zu diesem Zwecke versetzt man mit einem Überschuß von jodatfreiem Kaliumjodid. Es erfolgt dann Umsetzung nach folgender Gleichung:

$$KJO_3 + 5\,KJ + 3\,H_2SO_4 = 3\,K_2SO_4 + 3\,H_2O + 3\,J_2. \quad (2)$$

Das dabei frei werdende Jod titriert man in bekannter Weise mit n/10 Natriumthiosulfatlösung auf Grund der Reaktion:

$$2\,Na_2S_2O_3 + J_2 = 2\,NaJ + Na_2S_4O_6. \quad (3)$$

Die Menge des vorgelegten Kaliumjodats wählt man am besten so, daß der Überschuß 200 bis 400 mg beträgt. Für die meisten Substanzen wird man auskommen, wenn man etwa 300 mg der Substanz und 1,5 g Kaliumjodat anwendet.

Die Berechnung des Ergebnisses geschieht in folgender Weise:

Nach Gleichung (3) (S. 456) entspricht 1 Molekül Thiosulfat 1 Atom Jod, nach (2) (S. 456) 1 Atom Jod $^1/_6$ Molekül Kaliumjodat, also 1 Mol Thiosulfat $= KJO_3/6 = 214{,}02/6 = 35{,}67$. Es entspricht also 1 ccm n/10 Thiosulfatlösung 3,567 mg KJO_3, oder, da wir zur Titration nur $^1/_5$ der gesamten Lösung verwenden, 17,84 mg KJO_3.

Weiter machen nach (1) (S. 455) 6 Moleküle KJO_3 15 Atome Sauerstoff frei, also 1284,1 g KJO_3 140 g O oder 1 g KJO_3 0,1869 g O.

Demnach ist:

$$\text{Vakat-O} = \frac{(\text{Vorgel. } KJO_3 - \text{Verbr. n/10 } Na_2S_2O_3 \times 17{,}84)\ 0{,}1869 \times 100}{\text{Angewandte Substanz}}$$

z. B. Harnsäure.:

Angewandte Substanz	0,3012 g
Vorgelegtes KJO_3	0,7389 g
Unverbrauchtes KJO_3	0,2667 g
Verbrauchtes KJO_3	0,4722 g
log verbrauchtes KJO_3	67 413
log 0,1869	26 161
log angewandte Substanz — 10	52 115
log Vakat-O	45 689
Vakat-O: gefunden	28,63%
berechnet	28,55%
n/10 Thiosulfat verbraucht	14,90 15,00
Durchschnitt	14,95
log 14,95	17 464
log 17,84	25 139
log unverbrauchtes KJO_3	42 603

Die Berechnung des Stickstoffgehalts braucht hier nicht ausgeführt zu werden.

2. Beispiel. Glykokoll, $C_2H_5NO_2$. Nimmt auf $\frac{8+5-3-4}{2}$ = 3 Atome Sauerstoff = 48 g, Molekulargewicht = 75,04, Vakat-O = 63,97 %:

Angewandte Substanz	0,3184 g
Vorgelegtes KJO_3	1,4633 g
Unverbrauchtes KJO_3	0,3523 g
Verbrauchtes KJO_3	1,1110 g
log verbrauchtes KJO_3	04 571
log 0,1869	26 161
log angewandte Substanz — 10	49 703
log Vakat-O	80 435
Vakat-O: gefunden	63,73 %
berechnet	63,97 %
n/10 Thiosulfat verbraucht	19,70 19,80
Durchschnitt	19,75
log 1975	29 557
log 1784	25 139
log unverbrauchtes KJO_3	54 696

3. Beispiel. Traubenzucker, $C_6H_{12}O_6$. Nimmt auf $\frac{24+12-12}{2}$ = 12 Atome = 192 Sauerstoff; Molekulargewicht 180,1; Vakat-O = 109,9 %:

Angewandte Substanz	0,2331 g
Vorgelegtes KJO_3	1521,6 mg
Unverbrauchtes KJO_3	112,4 „
Verbrauchtes KJO_3	1409,2 mg
log verbrauchtes KJO_3	14 891
log 0,1169	26 161
log Substanz — 10	63 245
log Vakat-O	04 297
Vakat-O: gefunden	110,4
berechnet	109,9
n/10 Thiosulfat verbraucht	6,30 6,30
Durchschnitt	6,30
log 6,30	79 934
log 1784	25 139
log unverbrauchtes KJO_3	05 073

Die Methode liefert sehr exakte Resultate. Man kann, da ja die jodometrische Titration mit Thiosulfat sehr empfindlich ist, bequem auf Mengen heruntergehen, wie sie für die Mikrokjeldahlmethode üblich sind. Eine Einschränkung besteht insofern, als Substanzen, die den Stickstoff an Sauerstoff oder wieder an Stickstoff gebunden enthalten (also z. B. Nitro- und Azoverbindungen), der Methode nicht zugänglich sind, ganz ebenso wie beim Kjeldahl. Das spielt ja aber für biologische Zwecke keine Rolle, da hier solche Substanzen nicht in Frage kommen.

Zu bemerken ist ferner, daß Halogene in elementarer Form abgespalten werden. Die Reaktion verläuft folgendermaßen:

$$\left.\begin{aligned} 2\,KJO_3 + 10\,NaCl + 6\,H_2SO_4 &= K_2SO_4 + 5\,Na_2SO_4 \\ &+ 6\,H_2O + J_2 + 5\,Cl_2. \end{aligned}\right\} \quad (4)$$

Es verbrauchen also 5 Moleküle NaCl 1 Molekül KJO_3. Dies bedeutet eine gewisse Komplikation der Methode insofern, als man bei der Anwendung auf den Harn die Chloride besonders bestimmen muß, wenn es einem nur auf die organischen Bestandteile ankommt.

Nicht anwendbar ist die Methode natürlich, wenn wesentliche Mengen flüchtiger Säuren vorhanden sind, da diese zum Teil unzersetzt entweichen würden, wodurch der Wert für den Vakatsauerstoff zu niedrig werden würde.

Anwendung auf den Harn.

Bei der Anwendung der Methode auf den Harn verwendet man zweckmäßig auf 10 ccm Harn etwa 1 g KJO_3. Wie erwähnt, ist es erforderlich, die Chloride gesondert zu bestimmen und die diesen entsprechende Menge Kaliumjodat von dem gefundenen Verbrauch abzuziehen.

Nach Gleichung (4) (S. 458) verbrauchen 5 Atome Cl 1 Molekül KJO_3,

also	177,3 mg	Cl	214,02 mg KJO_3
oder	1 „	Cl	1,207 „ KJO_3.

Systematische Untersuchungen über das Verhalten des Oxydationsquotienten im Harn liegen noch nicht vor, die bisherigen Ergebnisse zeigen aber, daß eine recht gute Konstanz vorzuliegen scheint.

Es wird besonders interessieren, welchen Anteil die einzelnen Bestandteile des Harns an der Bildung des Vakatsauerstoffs haben, und Untersuchungen über die Schwankungen des letzteren werden (wie übrigens auch beim Kohlenstoffquotienten) nur dann weitergehende Schlüsse auf den intermediären Stoffwechsel zulassen, wenn man feststellen kann, welche Stoffgruppen für die Abweichung ver-

antwortlich zu machen sind. Mit anderen Worten, es wird notwendig sein, den Harn in einzelne Fraktionen aufzuteilen und in diesen gesondert den Quotienten zu bestimmen. In dieser Richtung angestellte Vorversuche haben ergeben, daß sowohl bei der Trennung mit Phosphorwolframsäure wie bei der mit Sublimat und Soda die Fraktionen Werte ergeben, deren Summen gut mit den Werten im Gesamtharn übereinstimmen.

Vergleichen wir die Methode des Oxydationsquotienten mit der Bestimmung des Kohlenstoffquotienten, so scheint die Notwendigkeit der Chloridbestimmung bei der Anwendung auf den Harn einen Nachteil der ersteren zu bedeuten; bedenken wir aber, wie leicht, rasch und zuverlässig die Chloridbestimmung nach *Volhard* sich gestaltet, und ferner, daß andererseits die Bestimmung des Vakatsauerstoffs sehr viel einfacher und vor allem genauer als die des Kohlenstoffs ist, daß weiter in derselben Substanzprobe gleichzeitig die Stickstoffbestimmung vorgenommen werden kann, so dürfte schon rein methodisch dem Oxydationsquotienten der Vorzug zu geben sein.

Dazu kommt einmal der oben ausgeführte Vorteil, daß der Vakatsauerstoff das wahre Maß der Oxydationsvorgänge viel genauer wiedergibt als der Kohlenstoffquotient. Noch mehr fällt vielleicht ein anderer Umstand ins Gewicht: Der auf den Harnstoff entfallende Kohlenstoff macht über die Hälfte des Gesamtharnkohlenstoffs aus, während an der Bildung des Vakatsauerstoffs der Harnstoff überhaupt nicht beteiligt ist. Ein Schwanken des Nichtharnstoffkohlenstoffs muß also im Oxydationsquotienten einen viel größeren Ausschlag geben als im Kohlenstoffquotienten.

Abgesehen von diesen Fragen der Stoffwechselphysiologie und -pathologie, die durch die Untersuchung des Harns beantwortet werden, sind noch eine Reihe anderer Fragestellungen der Erforschung mit Hilfe des Oxydationsquotienten zugänglich. So dürfte die Methode bei der Verfolgung mancher biologischer oxydativer und reduktiver Prozesse, z. B. fermentativer Umsetzungen, gute Dienste zu leisten vermögen.

Auch für die präparative Biochemie ergeben sich Anwendungsmöglichkeiten. So kann man feststellen, ob eine Lösung eines bekannten Körpers noch andere organische Stoffe in wesentlicher Menge enthält.

Die Methodik gestattet ferner, zwei in Lösung befindliche Körper nebeneinander quantitativ zu bestimmen, sofern nur die Lösung keine anderen in Reaktion tretenden Stoffe mehr enthält.

Sind nämlich x und y die gesuchten Substanzen, N_1 und N_2 ihr Stickstoffgehalt, S_1 und S_2 ihr Vakatsauerstoff und N und S der durch

die Analyse ermittelte Stickstoffgehalt bzw. Vakatsauerstoff der Lösung, alles in Prozenten, so ist:

$$\begin{aligned} x\,N_1 \quad &+ y\,N_2 \quad = N \\ x\,S_1 \quad &+ y\,S_2 \quad = S \\ \hline x\,N_1S_2 &+ y\,N_2S_2 = NS_2 \\ x\,N_2S_1 &+ y\,N_2S_2 = SN_2 \\ \hline x\,N_1S_2 &- x\,N_2S_1 = NS_2 - SN_2 \end{aligned}$$

$$x = \frac{NS_2 - N_2S}{N_1S_2 - N_2S_1}.$$

Ganz entsprechend findet man:

$$y = \frac{NS_1 - N_1S}{N_2S_1 - N_1S_2}.$$

Schließlich bedeutet noch die Anwendung der besprochenen Methode eine wesentliche Vereinfachung der Elementaranalyse insofern, als die Bestimmung des Oxydationsquotienten allein in sehr vielen Fällen die Bestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs völlig zu ersetzen vermag. Das soll in einer folgenden Mitteilung ausführlich auseinandergesetzt werden.

Zusammenfassung.

1. Der „Vakatsauerstoff" ist die Menge Sauerstoff, die eine Substanz bzw. Lösung bei völliger Oxydation zu den Endprodukten der tierischen Verbrennungen noch aufnehmen würde, der „Oxydationsquotient" das Verhältnis des Stickstoffgehalts zum Vakatsauerstoff.

2. Es wird die Methodik der Bestimmung des Oxydationsquotienten beschrieben.

3. Der Oxydationsquotient gibt den Oxydationszustand genauer wieder als der Kohlenstoffquotient und ist deshalb sowie aus methodischen Gründen diesem vorzuziehen.

4. Die Anwendungsgebiete der Methodik werden besprochen.

Literatur.

1) *H. Müller*, Klin. Wochenschr., 5. Jahrg., 1926, S. 2263. — 2) *Rubner*, Zeitschr. f. Biol. **21**, 329, 1885. — 3) *Frank* und *Trommsdorff*, ebendaselbst **43**, 271, 1902. — 4) *Spiro*, Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. **10**, 281. — 5) *Bickel*, diese Zeitschr. **166**, 251, 1925; und weitere Arbeiten in derselben Zeitschrift. — 6) *Ackermann*, Klin. Wochenschr., 5. Jahrg., 1926, S. 848. — 7) *Strebinger*, Zeitschr. f. anal. Chem. **58**, 97, 1919. — 8) Vgl. *Treadwell*, Kurzes Lehrb. d. anal. Chem., 11. A., **2**, 571, 1923.

Über Atmung und Gärung in grünen Pflanzen[1]).

Von

Louis Genevois (Bordeaux).

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 1. Mai 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die botanische Literatur ist erfüllt von Untersuchungen über die „intramolekulare Atmung" der Pflanzen, worunter im Anschluß an die Vorstellungen von *Pasteur* die anaerobe Bildung oder Ausscheidung von CO_2 verstanden wird, die oft, aber nicht immer, mit einer der Gärungsgleichung entsprechenden Alkoholbildung verknüpft ist[2]). Besonders Samenpflanzen, Früchte, Wurzeln zeigen eine erhebliche anaerobe Kohlensäurebildung, grüne Pflanzen im allgemeinen weniger. Das Verhältnis der Größe anaerober und aerober CO_2-Ausscheidung ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen[3]). Indessen herrscht weder über die Bedeutung noch das Zustandekommen der anaeroben Atmung der Pflanzen volle Klarheit, auch nicht über den Zusammenhang mit der aeroben Atmung. Nachdem aber bei der alkoholischen Gärung der Hefe dieser Zusammenhang bis zu einem gewissen Grade geklärt werden konnte[4]), lag es nahe, zu untersuchen, ob die dort gefundenen Gesetzmäßigkeiten auch für die intramolekulare Atmung der

---

[1]) Die Arbeit wurde mit Unterstützung des „International Education Board" der Rockefeller-Stiftung ausgeführt, dem ich dafür meinen besten Dank sage.

[2]) Zur Übersicht siehe *Kostytschew*, Pflanzenatmung. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere. 8. Bd. Berlin, Julius Springer, 1924.

[3]) Von neuerer Literatur siehe z. B. *Boysen-Jensen*, Dansk. Vedensk. Selskab Biol. 4, 1, 1923.

[4]) *O. Meyerhof*, Chem. Ber. 58, 991, 1925; diese Zeitschr. 162, 43, 1925.

Pflanzen Geltung haben. Der von *Pasteur* entdeckte hemmende Einfluß des Sauerstoffs auf die Gärung war von *Otto Meyerhof* in folgender Weise quantitativ bestimmt und erklärt worden: Die Hefe besitzt wie die meisten sich vermehrenden Zellen zwei primär voneinander unabhängige, Energie liefernde Stoffwechselprozesse: einen ohne Eingriff des Sauerstoffs verlaufenden Spaltungsvorgang und einen Oxydationsprozeß. Wenn dieser letztere stattfinden kann, so macht er einen Spaltungsumsatz, der ein bestimmtes Vielfaches des Atmungsumsatzes beträgt, rückgängig. Der Oxydationsquotient

$$\frac{\text{rückgängig gemachter Spaltungsumsatz in Mol. Zucker}}{\text{Oxydationsumsatz in Mol. Zucker}}$$

ist innerhalb gewisser Grenzen konstant, etwa 3 bis 6. Die Rückgängigmachung beruht nicht etwa auf der Weiteroxydation der Spaltprodukte — das wäre ja mit dem Oxydationsquotienten unvereinbar —, sondern in einer Zurückverwandlung der Spaltprodukte in die Ausgangsstoffe. Infolgedessen wirken auch die Intermediär- und Endprodukte der Gärung auf die Atmung der Hefe ebenso wie Zucker ein, und ihre Umwandlung in Kohlehydrate in Gegenwart von Sauerstoff ist analytisch feststellbar.

Ich habe auf Vorschlag von Herrn *Meyerhof* untersucht, ob in grünen Pflanzen derselbe Zusammenhang nachweisbar ist. Es war zu fragen, ob die intramolekulare Atmung unter denselben Bedingungen der Hemmung der Sauerstoffatmung auftritt, wie die Gärung der Hefe, und ob hier ein ähnlicher Oxydationsquotient nachweisbar ist; ferner: welche Stoffe steigern die Atmung der grünen Pflanzen ähnlich wie Zucker, und finden sich hierbei ebenfalls solche, die als Intermediärprodukte der Gärung in Frage kommen? Diese Versuche sind zunächst an frei lebenden grünen Algenzellen angestellt, über deren Atmung *O. Warburg* und seine Mitarbeiter zahlreiche Angaben gemacht haben[1]). Insbesondere ist die Atmung der Chlorella unter Zusatz von Zucker kürzlich von *Emerson*[2]) in dem *Warburg*schen Laboratorium nach verschiedenen Richtungen untersucht worden. Ich habe meine Beobachtungen in der vorliegenden Arbeit an Algen aus verschiedenen Familien, im ganzen an sechs verschiedenen Arten, gewonnen; späterhin sollen sie auch auf höhere Pflanzen und Samenpflanzen ausgedehnt werden, bei denen schon unter natürlichen Bedingungen mit der Möglichkeit anaerober Zustände zu rechnen ist.

---

[1]) *O. Warburg*, diese Zeitschr. **100**, 230, 1919; **103**, 188, 1920; **110**, 66, 1920.

[2]) Journ. of General Physiol. **10**, 469, 1927.

Methodik.

Die benutzten Algen waren:

Chlorella pyrenoidea (Chick),
Scenedesmus Basiliensis (Chodat),
Coelastrum Proboscideum,
Haematococcus pluvialis,
Stichococcus bacillaris,
Pseudendoclonium Basiliense (Visch.).

Die Chlorella verdanke ich Herrn Professor *Warburg*; die übrigen hat liebenswürdigerweise Herr Dr. *Vischer* aus Basel mir in Reinkulturen zur Verfügung gestellt. Nach *Goebel*[1]) gehört Haematococcus pluvialis zur Gruppe der Volvocales, Chlorella pyrenoidea, Scenedesmus Basiliensis und Coelastrum Proboscideum zu den Protococcales und zur Familie der Scenedesmuceae, Stichococcus bacillaris zu den Ulotrichales. Haematococcus wurde sowohl in grünem Zustande als im Zustande der roten Dauerzellen untersucht. Die Züchtung geschah nach den Angaben *O. Warburgs* teils am Fenster, teils unter der Wirkung elektrischen Lichtes in *Knop*scher Lösung. Die Gefäße wurden dauernd von Luft, die 5 % Kohlensäure enthielt, durchströmt. Die Algen wurden aus der Flüssigkeit abzentrifugiert, in Ringerlösung suspendiert und von der Suspension in jedes Versuchsgefäß 1 ccm einpipettiert. Dazu kamen die verschiedenen Zusätze, wodurch das Volumen auf 2 ccm gebracht wurde.

Zur Messung von Sauerstoff und Kohlensäure verwandte ich die manometrische Methodik *O. Warburgs*[2]). Da die Assimilation ausgeschaltet werden sollte, wurden die Respirationsgefäße mit Stanniol umwickelt in den Thermostaten bei 20° gehängt. Die Atmungsmessung geschah in Luft. Sollte die Gärung in Stickstoff-Kohlensäure untersucht werden, so muß einmal der käufliche Stickstoff durch Überleitung über rotglühendes Kupfer von Sauerstoffspuren befreit werden, ferner aber die Umhüllung der Gefäße mit Stanniol schon vor Durchleitung des Stickstoffs stattfinden. Andernfalls bilden die Algen während der Durchleitung infolge Assimilation so viel Sauerstoff, daß die Gärung nachher stundenlang herabgesetzt wird. Schon dieser Umstand beweist, daß die Gärung hier gegen Sauerstoff ebenso empfindlich ist wie bei der Hefe. Für die Gärungsmessung wurde $NaHCO_3$ zur Ringerlösung zugegeben, so daß die Konzentration $1{,}5 \cdot 10^{-2}$ mol. betrug. In einzelnen Fällen, wo die Gärungskohlensäure von den fixen Säuren getrennt werden sollte, wurde der Anteil der letzteren durch Bestimmung

[1]) Morphologie und Biologie der Algen, 2. Aufl., 1923.
[2]) Siehe Stoffwechsel der Tumoren. Berlin, Julius Springer, 1926.

des verschwundenen Bicarbonats ermittelt. Die Berechnung geschah nach dem Vorbild *O. Warburgs* durch Bestimmung der Kubikmillimeter verschwundenen oder gebildeten Gases pro Milligramm Trockensubstanz: Q_{O_2} Sauerstoffverbrauch in Luft, $Q^{N_2}_{CO_2}$ Gärungskohlensäure in Stickstoff, $Q^{L}_{CO_2}$ Gärungskohlensäure in Luft. Das Trockengewicht pro Versuch schwankte zwischen 4 und 30 mg.

Atmung der Chlorella.

Daß die Atmung der Algen durch Zucker stark erhöht wird, ist schon von *O. Warburg* gefunden, der auch eine Atmungssteigerung während der Assimilation beobachtete, eben wegen des hierbei entstehenden Zuckers. Außerdem ist die Atmungsgröße in mineralischer Lösung offenbar abhängig von der Menge der Reservesubstanzen der Algen; sie ist daher kleiner bei Zellen, die längere Zeit bei niedriger Beleuchtung gezüchtet sind. Den Abfall der Atmungsgröße derselben Kultur bei Züchtung unter zunehmend verschlechterter Belichtung ersieht man aus dem folgenden Beispiel, wo gleichzeitig der Abfall der Atmung in aufeinander folgenden Stunden ersichtlich ist.

Tabelle I.

Sinken der Atmungsgröße von Algen bei Züchtung in schwach belichtetem Zimmer. (Die Versuche entstammen derselben Kultur.)

Datum 1926	Q_{O_2}-Werte ab Versuchsbeginn				
	15′	1h 30′	2h 30′	3h 30′	4h 30′
23. XI.	2,2	1,6	1,0	0,9	0,9
24. XI.	2,0	1,2	0,9	0,8	0,75
2. XII.	1,5	1,0	0,7	0,5	0,5
4. XII.	1,3	0,7	$< 0{,}1$	$< 0{,}1$	$< 0{,}1$

Durch die verschiedenen natürlichen Zucker: Glucose, Fructose, Mannose, Galaktose wird die Atmung, wie schon *Emerson* fand, ziemlich gleichmäßig gesteigert. Der Q-Wert steigt dabei von 1 bis 2 auf 4 bis 6. Der respiratorische Quotient ist in allen Fällen = 1. Bei der Prüfung anderer Stoffe in ihrer Wirkung auf die Atmung zeigte sich, daß die meisten als Intermediärprodukte der Gärung bekannten Verbindungen nur einen unbedeutenden Einfluß haben, so Milchsäure und Brenztraubensäure, die ebenso schwach wirken wie andere organische Säuren (als Alkalisalze benutzt). Verhältnismäßig stark steigerten drei Stoffe: Acetaldehyd, buttersaures Natrium und Alanin nebst einigen anderen Aminosäuren. Besonders interessant erschien die atmungssteigernde Wirkung des Acetaldehyds; in $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ mol. Lösung erhöhte er die

Atmung auf das Dreifache, so daß sich durchschnittlich ein Q-Wert von 3,2 ergab. Dabei steigt der respiratorische Quotient beträchtlich über 1, er beträgt im Durchschnitt 1,26. Da in Abwesenheit von Sauerstoff unter Aldehydwirkung keine Kohlensäure entsteht, muß man annehmen, daß der Aldehyd zu sauerstoffärmeren Verbindungen synthetisiert wird, also wahrscheinlich zu Fettsäuren. Die Größe des respiratorischen Quotienten deutet auf eine beträchtliche Reduktion hin. Bei den höheren Aldehyden: Propylaldehyd und Valeraldehyd, war die Atmungssteigerung geringer und ebenso die Vergrößerung des respiratorischen Quotienten. Doch war auch hier beides nachweisbar. Als Beispiel mögen die folgenden Versuche dienen.

Tabelle II.

Datum	Versuchsdauer Std.	Algen-Trockensubstanz mg	Zugesetzter Aldehyd	Mol. Konzentration	Q_{O_2} mit Aldehyd	Q_{O_2} ohne Zusatz	Respiratorischer Quotient
3. XII.	5	6	Acetaldehyd	0,025	3,2	0,8	
			Propylaldehyd	0,025	2,1		
			Valeraldehyd	0,025	1,7		
26. XI.	5	8	Formaldehyd	0,025	0	1,0	
			Acetaldehyd	0,025	3,3		
			Propylaldehyd	0,025	2,6		
			Valeraldehyd	0,025	2,1		
7. XII.	$6^1/_2$	7	Acetaldehyd	0,025	3,0	1,0	1,26
			Propylaldehyd	0,025	2,0	1,0	
8. XII.	5	17	Propylaldehyd	0,025	2,1	1,0	1,13
			Valeraldehyd	0,025	1,4	1,0	1,06

(Der Formaldehyd hemmt, wie man sieht, die Atmung komplett.)

Eine verhältnismäßig starke Steigerung der Atmung bewirken auch die Alkalisalze der niederen Fettsäuren, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, wobei die Wirkung des Butyrats am größten ist. Der Q_{O_2}-Wert betrug durchschnittlich über 3,5. Auch die anderen untersuchten Algenarten zeigten ein ähnliches Verhalten; falls ihre Atmung durch Zucker gesteigert wurde, wirkte buttersaures Natrium ähnlich. Daß die Atmungssteigerung auf eine Oxydation der Säure zurückzuführen ist, beweist die Verkleinerung des respiratorischen Quotienten, der hier 0,8 beträgt, während er in mineralischer Lösung = 1 ist. Als Beispiel diene die folgende Tabelle III.

Tabelle III.

Datum 1927	Algen-Trockensubstanz mg	Versuchsdauer Std.	Zugesetztes fettsaures Salz	Prozentische Konzentration	Q_{O_2} mit Fettsäure	Respiratorischer Quotient mit Fettsäure	Q_{O_2} ohne Fettsäure
7. I.	36	4	Essigsaures Natrium	1	3,1		1,8
			Buttersaures Natrium	1	3,7		
31. I.	16	5	Buttersaures Natrium	1	3,4	0,81	1,1
2. II.	13	5	Valerians. Natrium	1	3,0	0,86	1,4

Von den Aminosäuren, deren Wirkung im allgemeinen kleiner ist, hatten alle gut lösliche Säuren einen deutlichen Einfluß.

In der Tabelle IV sind mehrere Versuche mit verschiedenen Aminosäuren vereinigt. Insbesondere sind die Q_{O_2}-Werte mit jeder einzelnen Säure aus zwei verschiedenen Versuchen gewonnen, die mit I und II bezeichnet sind. Wie man sieht, sind in Gegenwart der Aminosäuren die Q-Werte in beiden Fällen gleich, obwohl sie in rein mineralischer Lösung außerordentlich differierten (im ersten Falle etwa 2,5, im anderen 0,1). Es ergibt sich daraus, daß nicht die relative Steigerung der Atmung für eine Substanz charakteristisch ist, sondern der absolute Q_{O_2}-Wert, unabhängig von der Atmungsgröße in mineralischer Lösung.

Tabelle IV.

Versuchsdauer Std.	Zugesetzte Aminosäure	Prozentische Konzentration	Q_{O_2} mit Aminosäure I	Q_{O_2} mit Aminosäure II	Q_{O_2} ohne Aminosäure I	Q_{O_2} ohne Aminosäure II
5	Glykokoll	1	3,8	3,9	2,8	0,1
5	Alanin	1	4,0	4,0	1,3	0,1
5	Leucin	1	3,2	3,1	2,5	0,1
5	Asparaginsaures Natrium	1	3,5		2,8	0,1
2	Cystin	gesätt.	0,8		0,7	

Die verschiedenen Alkohole sind völlig unwirksam.

Schließlich sei noch das Verhalten der zusammengesetzten Zucker erwähnt. Die Disaccharide, Milchzucker und Saccharose waren ohne Einfluß; dagegen steigerten zwei Hexosemonophosphorsäuren die Atmung aufs dreifache, nämlich der durch die Spaltung der Hexosediphosphorsäure erhaltene *Neuberg*sche Ester und die von *Neuberg, Hatano* und *Sabetay* aus Saccharosemonophosphorsäure erhaltene

Glucosemonophosphorsäure. Immerhin ist es möglich, daß diese Steigerung auf Beimengungen der Monoester beruht, da dieses wenigstens für die Atmungssteigerung bei der Hefe wahrscheinlich gemacht werden konnte[1]).

Tabelle IV a.

Wirkung von Hexosemonophosphorsäuren auf die Atmung.

Datum 1927	Algen-Trockensubstanz mg	Versuchsdauer Std.		Molare Konzentration	Q_{O_2}
21. IV.	17	1,30	Glucose	$5 \cdot 10^{-2}$	5,2
	17	1,30	*Nodzu*scher Ester *)	$5 \cdot 10^{-2}$	2,6
	17	1,30	*Neuberg*scher Ester **)	$5 \cdot 10^{-2}$	2,7
2. II.	12	4	*Neuberg-Sabetay*-Ester†)	$5 \cdot 10^{-2}$	3,1

*) Journ. of Biochem. (Tokio) **6**, 31, 1925.
) Diese Zeitschr. **88, 432, 1918.
†) Diese Zeitschr. **162**, 479, 1925.

Atmung der anderen Algen.

Auch bei den anderen eingangs erwähnten Algen wurde die absolute Größe der Atmung, ihre Beeinflussung durch Zucker und eine Reihe der anderen oben erwähnten Substanzen: Aldehyde, Fettsäuren, Aminosäuren untersucht. Ihr Verhalten stimmte mit dem der Chlorella im wesentlichen überein. Der Q_{O_2}-Wert ohne Zucker betrug zwischen 1 und 2; in Zucker stieg er auf 3 bis 6, bei Coelastrum sogar auf 12. Abweichend verhielten sich nur die beiden Arten Pseudendoclonium Basiliense und Haematococcus pluvialis. Im letzteren Falle wurden die roten Dauerzellen durch Zucker gar nicht gesteigert, während die

Tabelle V.

Atmungsgröße (Q_{O_2}-Wert) verschiedener Algenarten mit und ohne Zusätze. Die Konzentration der Zusätze betrug $5 \cdot 10^{-2}$ mol.

Algenart	Ringerlösung	Glucose	Acetaldehyd	Propylaldehyd	Buttersaures Natrium
Chlorella	1,0	5,0	3,2	2,2	3,7
Scenedesmus Basiliensis .	1,4	6,0	2,1	1,8	7,5
Coelastrum Proboscideum	1,7	12,7		2,8	6,7
Stichococcus bacillaris . .	1,4	6,2	1,4		2,7
Pseudendoclonium . . .	1,0	1,0	1,6	2,1	1,0
Basiliense Haematococcus pluvialis rot	1,8	1,8	0,0		0,0
Dasselbe grün	1,5	5,0			

[1]) Siehe *O. Meyerhof* und *K. Lohmann*, diese Zeitschr. **185**, 113, 1927.

jungen, grünen Zellen sich genau wie die anderen Zellen verhielten, indem ihre Atmung von 1,5 auf 5,0 stieg. Genau wie der Einfluß des Zuckers verhielt sich auch der des buttersauren Natriums. Auch dieses wirkte in den beiden genannten Arten nicht, während es sonst überall steigerte. Eine Übersicht gibt die Tabelle V.

Gärung der Algen.

In Abwesenheit von Zucker zeigen die Chlorella und ebenso die anderen untersuchten Algen keine Kohlensäurebildung in Stickstoff und bicarbonathaltiger Ringerlösung. Bei Zusatz von Zucker aber erhält man eine während 24 Stunden konstante Gärung, deren Q_{CO_2}-Wert 1 bis 1,5 beträgt (s. Abb. 1). Die Kohlensäurebildung ist also etwa

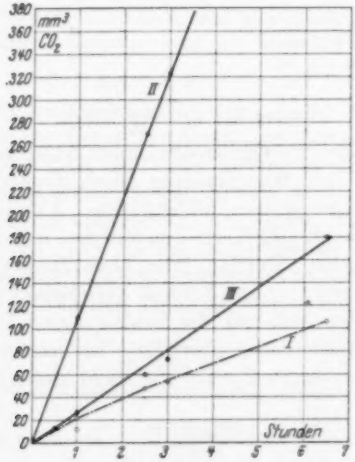


Abb. 1.
Atmung und Gärung von Chlorella.
I. Atmung ohne Zusatz.
II. Atmung in Glucoselösung.
III. Gärung in Glucoselösung.
Abszisse: Zeit in Stunden.
Ordinate: Kubikmillimeter CO_2.

von derselben Größenordnung wie bei der Atmung in mineralischer Lösung. Doch entspricht dies nur einem Energieumsatz von etwa 5% dieser Atmung. Die Gärung in Gegenwart der verschiedenen Zucker ist ähnlich, bei Galaktose vielleicht etwas kleiner. Der Vergleich des Einflusses der verschiedenen Zucker auf die Atmung einerseits, auf die Gärung in Stickstoff andererseits ergibt die in der folgenden Übersicht enthaltenen Q-Werte.

Tabelle VI.

Atmung und Gärung in 1% Zuckerlösung.

Benutzter Zucker	Q_{O_2} in Luft	$Q^{N_2}_{CO_2}$
—	1,4	0
Traubenzucker	5,35	1,27
Fruchtzucker	3,85	1,21
Mannose	5,0	1,0
Galaktose	4,4	0,71

Die Gärung beruht zum Teil auf der Bildung von Kohlensäure und Alkohol, zum Teil auf der Bildung fixer Säuren.

Ein Beispiel für den Anteil der *gebildeten* und durch fixe Säuren *ausgetriebenen* Kohlensäure gibt der folgende Versuch Je 15 mg Algen pro Gefäß; 1% Traubenzuckerlösung, Ringerbicarbonat. $Q^{N_2}_{CO_2} = 1{,}3$.

Tabelle VIa.

Versuchsdauer Std.	cmm CO_2			Gebildete Kohlensäure an der Gesamtgärung %
	Totale Menge	Gebildete Menge	Ausgetriebene Menge	
4,30	90	56	34	62
7,00	130	86	47	65

Die Gärung der anderen Algen ist von derselben Größenordnung wie die der Chlorella, wie die nachfolgende Übersicht zeigt.

Tabelle VII.

Datum 1927	Untersuchte Art	Trockensubstanz mg	Versuchsdauer Std.	$Q^{N_2}_{CO_2}$
14. III.	Chlorella	10	4	1,6
21. III.	Coelastrum	15	3	2,4
12. III.	„	11	2	3,1
24. II.	Scenedesmus	8	3	0,9
29. III.	„	8	4	2,6
14. II.	Haematococcus rot	11	5	1,2
5. IV.	„ grün	40	2	0,8

Der Einfluß des Sauerstoffs auf die alkoholische Gärung der Hefe schwindet auch dann, wenn man die Atmung durch n/500 Blausäure hemmt[1]). In dieser Konzentration hemmt die Blausäure die Atmung

[1]) *O. Meyerhof*, diese Zeitschrift, a. a. O.

der Hefe in Zucker fast vollständig, die Gärung aber nur ganz wenig. Das Verhalten der Algen gegenüber Blausäure weicht von dem anderer Zellen ab. Nach *O. Warburg* wird die Atmung der Algen in mineralischer Lösung durch mittlere und selbst hohe Konzentrationen nur beschleunigt, und erst n/10 KCN hemmt etwa 40%. Dagegen wird, wie *Emerson*[1]) fand, die normale Empfindlichkeit gegen Blausäure bei der Atmung in Zuckerlösung erreicht. 10^{-4} n hemmt hier etwa 60%. Meine Versuche bestätigen diese Befunde für Chlorella und die meisten anderen Algenarten. Dagegen fand ich *eine* Ausnahme. Die Atmung von Scenedesmus war schon in mineralischer Lösung gegen Blausäure sehr empfindlich und die Atmungshemmung bei dieser Algenart mit und ohne Zucker nahezu gleich, wie der folgende Versuch ergibt.

Tabelle VIII.

Atmungshemmung von Scenedesmus Basiliensis.
(4. April 1927. Je 9 mg Algensubstanz. Dauer 4 Stunden.)

Mol. KCN-Konz.	Q_{O_2} in Ringerlösung	Hemmung in Ringerlösung %	Q_{O_2} in Zuckerlösung	Hemmung in Zuckerlösung %
0	2,2		6,0	
$2 . 10^{-5}$	3,1		4,0	33
$2 . 10^{-4}$	0,9	59	2,6	57
$4 . 10^{-4}$	0,3	86	1,4	77
$4 . 10^{-3}$	0	100	0,6	90

Danach hemmt $1 . 10^{-4}$ KCN schon über 50%.

Ein zweiter Versuch ist auf Abb. 2 dargestellt.

Ferner zeigt sich, daß die Atmung der Chlorella nicht nur in Gegenwart von Zucker, sondern auch von anderen spezifisch steigernden Substanzen gegen Blausäure empfindlich wird, so in Gegenwart von buttersaurem Natrium und Acetaldehyd.

Mit 10^{-3} n KCN ergibt sich z. B. das in der folgenden Tabelle IX aufgeführte Resultat.

Auch bei hohen Blausäurekonzentrationen wird die Atmung in Gegenwart von Zucker niemals vollständig gehemmt, sondern es bleibt ein Atmungsrest bestehen etwa von der Größe der autotrophen Atmung. Dies spricht dafür, daß die gewöhnliche Atmung auch in Gegenwart von Zucker persistiert und daß die Zusatzatmung in Zucker nicht genau

[1]) Journ. General Physiol., l. c. S. 471.

Tabelle IX.

Atmungshemmung der Chlorella in Gegenwart steigernder Substanzen durch 10^{-3} mol. Blausäure.

Datum 1927	Versuchsdauer Std.	Algen-Trockensubstanz mg	Zusatz	Q_{O_2}	Q_{O_2} mit Blausäure	Hemmung %
28. III.	4,30	28	—		1,0	
			Acetaldehyd	2,1	0,6	72
			Buttersäure	2,8	0,9	68
26. III.	3	33	—		0,9	
			Traubenzucker	5,0	1,1	78

dieselben Eigenschaften besitzt wie jene. Eine solche Annahme wird besonders durch das Verhalten der Gärung in Gegenwart von Blausäure nahegelegt. Bei der Chlorella wie bei den anderen geprüften Algen tritt nämlich in Anwesenheit von $5 \cdot 10^{-4}$ n KCN dieselbe Gärung

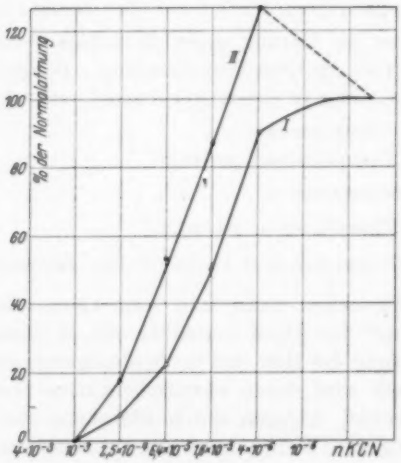


Abb. 2.
Atmungshemmung durch Blausäure bei Scenedesmus Basiliensis.
×——× I. Verlauf der Atmungshemmung in 0,8 %iger Traubenzuckerlösung.
●·····● II. Verlauf der Atmungshemmung in 0,8 %iger Ringerlösung.
Abszisse: KCN-Konzentration in logarithmischem Maße.
Ordinate: % N Atmung ohne Zusatz.

auf wie in Stickstoff, obgleich noch eine Restatmung in der Größe der autotrophen Atmung fortbesteht. Dabei hemmt diese Konzentration KCN die anaerobe Gärung nicht. Das angegebene Resultat ersieht man aus der folgenden Übersicht.

Tabelle X.

Anaerobe Gärung sowie Gärung unter KCN-Einfluß im Vergleich zur Atmung. (KCN-Konzentration $5 \cdot 10^{-4}$ n.)

Datum 1927	Versuchsdauer Std.	Algen-Trockensubstanz mg	Algenart	Q_{O_2} in Zucker	Q_{O_2} mit KCN	$Q^{L}_{CO_2}$ mit KCN	$Q^{N_2}_{CO_2}$	$Q^{N_2}_{CO_2}$ mit KCN
14. III.	4	10	Chlorella	5,8	1,2	1,6	1,6	1,6
16. III.	4	20	„	5,0	1,3	1,5	1,45	1,4
21. III.	3	15	Coelastrum	5,3	3,3	2,1	2,4	2,1
12. III.	2	11	„	6,0	3,3	3,1	3,8	3,1
29. III.	4	8	Scenedesmus	6,6	0,5	1,6	1,6	2,6
5. IV.	2	22	Haematococcus	5,0	2,4	1,1	1,3	1,2

Aus den Versuchen ergibt sich, daß z. B. bei Coelastrum eine persistierende Atmung mit dem Q_{O_2}-Wert 3,3, die der Atmung ohne Zucker entspricht, gar keinen Einfluß auf die Gärung ausübt.

Andererseits ist die Gärung gegen Narkotica ebenso empfindlich wie die Atmung, also ein Oberflächenvorgang. Beispielsweise beträgt die Atmung und Gärung in gesättigter Phenylurethanlösung:

Q_{O_2} mit 1% Traubenzucker 5,5
Q_{O_2} do. mit Phenylurethan gesättigt 2,5
$Q^{N_2}_{CO_2}$ mit Traubenzucker 1,7
$Q^{N_2}_{CO_2}$ do. mit Phenylurethan gesättigt 0,33
$Q^{L}_{CO_2}$ mit Traubenzucker und Phenylurethan gesättigt . . . 0

Aus diesen Versuchen kann man entnehmen, daß die „intramolekulare Atmung" der Algen wesentlich die gleichen Eigenschaften besitzt wie die Gärung der Hefe und die Spaltungsvorgänge in tierischen Zellen: Der Prozeß wird durch oberflächenaktive Stoffe ebenso wie die Atmung gehemmt, dagegen durch Blausäure viel schwächer als diese. Die Gärung wird ferner durch die Sauerstoffatmung zum Verschwinden gebracht und ist daher nur nachweisbar entweder in Abwesenheit von Luft oder nach Hemmung der Atmung in Blausäure. Zum Unterschied von den übrigen Zellen besteht aber in Zuckerlösung ein blausäureresistenter Rest der Atmung fort, der etwa ebenso groß ist, wie die gegen Blausäure unempfindliche Atmung in mineralischer Lösung. Dieser Rest ist aber nicht imstande, die Gärung zu beeinflussen. Eine quantitative Bestimmung des Oxydationsquotienten ist andererseits nicht möglich, weil die Gärung im Vergleich zur Atmung zu klein ist. Auch ist ein spezifisch atmungssteigernder Einfluß der Gärprodukte nicht feststellbar, mit Ausnahme von Acetaldehyd.

Jedoch folgt aus der abnormen Größe des respiratorischen Quotienten von 1,26 in diesem Falle, daß in Gegenwart von Acetaldehyd eine Synthese stattfindet, die nicht zu Kohlehydrat, sondern zu sauerstoffärmeren Verbindungen führt, wie etwa höheren Fettsäuren. Atmungssteigernd wirken ferner noch buttersaures Natrium und etwas geringer die Aminosäuren, insbesondere Alanin. Die durch Aldehyd und Buttersäure gesteigerte Atmung ist ähnlich blausäureempfindlich wie die in Zucker. Erst die Ausdehnung der Untersuchung auf stärker gärende Pflanzen wird lehren, ob auch der quantitative Zusammenhang zwischen Atmungs- und Spaltungsstoffwechsel bei den autotrophen Pflanzen mit dem der Hefe und Mikroorganismen übereinstimmt.

Über den Stickstoffgehalt des Aspergillins.

Von

August Rippel und **Kurt Walter.**

(Aus dem Institut für landwirtschaftliche Bakteriologie der Universität Göttingen.)

(Eingegangen am 5. Mai 1927.)

Trotz der äußerst zahlreichen Untersuchungen, die sich mit dem klassischen Untersuchungsobjekt unter den Mikroorganismen — *Aspergillus niger* — befassen, hat man sich noch kaum mit dem Stoff beschäftigt, dem dieser Pilz seinen Artnamen „niger" verdankt. *Linossier*[1]) nannte den (amorphen) Stoff, dem die schwarze Farbe der Sporen zuzuschreiben ist, „*Aspergillin*". Erst *Bortels*[2]) hat sich wieder näher damit beschäftigt und hält ihn für ein Gemisch verschieden stark humifizierter Substanzen. Als wesentlich heben wir hier nur hervor, daß man drei Fraktionen feststellen kann: 1. eine alkohollösliche, 2. eine alkalilösliche, 3. eine absolut unlösliche, welche, wie die beiden genannten Autoren zeigten, durch Trocknen in der Richtung 1—3 ineinander übergehen.

Uns interessierte nun der Stickstoffgehalt dieses Stoffes, weil er noch nicht bekannt ist; sodann aber — und dies war der eigentliche Zweck der mitzuteilenden Versuche — die Frage, ob der Stickstoffgehalt der einzelnen Fraktionen der gleiche ist, und ob der Stickstoffgehalt der einzelnen Fraktion sich mit der Höhe der Stickstoffversorgung ändert. Denn bei den Humusstoffen des Bodens richtet sich der Stickstoffgehalt völlig nach dem Stickstoffgehalt des Ausgangsmaterials. Es mußte sich aus einer solchen Feststellung ein gewisser Anhaltspunkt dafür ergeben, wieweit man bei dem Aspergillin überhaupt mit einheitlichen Stoffen rechnen kann. Wir wollen zunächst die Versuche beschreiben.

Es wurde folgende Nährlösung verwendet: Rohrzucker 10%, KH_2PO_4 0,1%, $MgSO_4$ 0,03% und 0,2 bzw. 2,0% KNO_3 als geringe bzw. starke Stickstoffversorgung. Bei 10% Rohrzucker würde der Maximalertrag des

[1]) *G. Linossier*, C. r. **112**, 489, 1891.
[2]) *H. Bortels*, diese Zeitschr. **182**, 301, 1927.

Pilzes nach Versuchen von *R. Meyer*[1]) etwa bei 1% KNO_3 liegen, so daß wir also tatsächlich Unterernährung und Überernährung an Stickstoff zu erwarten hatten. Alkalinitrat mußte als Stickstoffquelle genommen werden als physiologisch alkalische N-Quelle, da nur in diesem Falle Sporen gebildet werden. Zur Kultur verwendeten wir je zwei große Doppelschalen von etwa 20 cm Durchmesser mit je 500 ccm Nährlösung. Geerntet wurde nach 10 (0,2% KNO_3) bzw. 16 (2,0% KNO_3) Tagen; es mußte nach verschiedener Zeit geerntet werden, um bei beiden ein möglichst gleiches Altersstadium (nach dem Augenschein geschätzt) zu verwenden.

Um die Sporen zu gewinnen, verfuhren wir folgendermaßen: Es kommt nur ein Abschwemmen in Frage, da eine Gewinnung durch Abschaben usw. zu viele Hyphen mitreißen würde. Wir tauchten daher das vorher mit Wasser, ohne Benetzung der sporentragenden Oberfläche, gut ausgewaschene Mycel zuerst mit der sporentragenden Seite in 96% Alkohol und drückten es dann mit diesem Alkohol aus, bis möglichst wenig Sporen noch entfernt werden konnten, ein Verfahren, das natürlich niemals quantitativ sein konnte, indem einerseits nicht alle Sporen gewonnen werden konnten, andererseits noch Stoffe aus dem Mycel in Lösung gehen konnten. Das rückständige Mycel wog lufttrocken (je zwei Schalen) bei 0,2% KNO_3 13,5 g, bei 2,0% KNO_3 20,5 g.

Die braune alkoholische Flüssigkeit wurde durch Goochtiegel filtriert und ergab im Filtrat die alkohollösliche Fraktion. Der Rückstand wurde auf dem Goochtiegel in der Kälte mit 2% Natronlauge digeriert und abgesaugt, was so lange wiederholt wurde, bis das Filtrat farblos ablief; das Filtrat ergab die alkalilösliche Fraktion. Der Rückstand wurde nach dem Waschen mit Wasser getrocknet und gewogen.

Die alkalilösliche Fraktion wurde mit Salzsäure gefällt, abfiltriert, ausgewaschen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Sie fiel durch die Säure nicht völlig aus; die Flüssigkeit blieb etwas bräunlich; doch konnte es sich, bei der intensiven Färbung des Stoffes, nur um sehr geringe zu vernachlässigende Mengen handeln. Die alkohollösliche Fraktion wurde zuerst etwas auf dem Wasserbad, dann weiter an der Luft bis zur Trockne eingedunstet. Der braune Rückstand war, entsprechend den oben erwähnten Angaben, nicht mehr völlig in Alkohol löslich. Er wurde in Natronlauge gelöst und mit Salzsäure gefällt, was momentan und quantitativ geschah (die Flüssigkeit blieb nur schwach gelblich), ausgewaschen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Bei der Kultur auf 2,0% KNO_3 stand die eingedunstete Alkoholfraktion 3 Wochen (über die Weihnachtsferien), der Rückstand war nunmehr auch in Natronlauge nicht mehr völlig löslich. Es handelte sich jedoch nur um eine geringe unlösliche Menge, die wir mit der übrigen vereinigten.

Über die Menge und den gasvolumetrisch bestimmten Stickstoffgehalt (Mittel aus je zwei übereinstimmenden Analysen) gibt folgende Übersicht Auskunft:

	Alkohollöslich		Alkalilöslich		Unlöslich	
KNO_3 . . . %	0,2	2,0	0,2	2,0	0,2	2,0
Substanz . . g	0,281	0,224	0,144	0,137	0,709	0,375
N . . . . . %	3,22	3,36	4,72	4,53	3,40	5,01

[1]) *R. Meyer*, Zeitschr. f. Pflanzenernährung A. 8, 121, 1926.

Hierbei muß nun von der unlöslichen Fraktion abgesehen werden; denn in ihr finden sich ja außer dem unlöslichen Aspergillin auch die sonstigen unlöslichen Sporenstoffe, wie Membranen usw., außerdem dürfte die hohe Zahl der 0,2-Kultur aus einem nicht erkennbaren Grunde zu hoch sein, entsprechend wohl auch die Stickstoffzahl zu niedrig.

Betrachten wir nun die beiden anderen Fraktionen, so ist sehr auffallend, daß sowohl absolute Mengen wie auch der Stickstoffprozentgehalt in beiden Fällen gleich sind, also bei unter- und überoptimaler Stickstoffversorgung, so daß man also wohl annehmen darf, daß die Bildung des Aspergillins einen chemisch einheitlichen Vorgang darstellt.

Was besagen nun diese Zahlen weiter? Wenn, wie oben schon erwähnt wurde, die einzelnen Fraktionen in der Richtung 1—3 durch Trocknen ineinander übergehen, so läge zunächst die Vermutung einer weiteren chemischen Veränderung der Alkalifraktion gegenüber der Alkoholfraktion nahe, durch die der Stickstoffprozentgehalt erhöht würde. Dem würde auch der Befund *Adlers*[1]) entsprechen, wonach bei der künstlichen Herstellung von alkaliunlöslichem Melanin aus alkalilöslicher Melaninsäure, die wiederum aus Tyrosin hergestellt wurde, der Stickstoffgehalt anstiege. Wir können jedoch nicht ohne weiteres eine derartige Annahme machen, denn es ist durchaus möglich, daß in die alkalilösliche Fraktion Eiweißstoffe aus den Sporen hineingelangt sind, welche den Stickstoffgehalt heraufdrücken. Bei diesem amorphen Stoff fehlt aber einstweilen jedes Reinheitskriterium; und jedenfalls würde eine Trennung von Eiweißstoffen nicht ganz einfach sein.

Daraus ginge aber weiter hervor, daß der „wirkliche" Stickstoffgehalt des Aspergillins, falls dieses überhaupt *ein* einheitlicher, in seinen einzelnen Fraktionen nur durch kolloidchemische Eigenschaften verschiedener Stoff ist, demjenigen der Alkoholfraktion nahe liegt. Ob er noch niedriger ist, würde davon abhängen, ob in diese Fraktion noch andere alkohollösliche Stickstoffverbindungen hineingekommen sind, was wir jetzt nicht entscheiden können.

Noch ein weiteres scheint aus diesen Zahlen hervorzugehen: Es kann nämlich die Bildung des Aspergillins nicht ohne weiteres etwa mit einer Melaninbildung aus Tyrosin etwas zu tun haben; denn hierbei hat man [*Oppenheimer*[1]), *Adler*[2])] im Melanin nur wenig niedrigeren, denselben oder höheren Stickstoffgehalt gefunden wie im Ausgangsmaterial[3]). Es ist damit selbstverständlich noch nicht gesagt, daß der Bildungsmechanismus von Aspergillin und Melanin nicht in Teilvor-

---

[1]) *C. Oppenheimer*, Die Fermente, 5. Aufl., S. 1810. Leipzig, G. Thieme, 1926.

[2]) *O. Adler*, diese Zeitschr. **141**, 304, 1923.

[3]) *Abderhalden* hat übrigens in Aspergillus niger kein Tyrosin gefunden (*E. Abderhalden* und *P. Rona*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**, 179, 1905).

gängen gleich sein könnte; aber er kann natürlich nicht völlig identisch sein. Wir hoffen, später weitere Beiträge zur Entstehung des Aspergillins liefern zu können.

Im Anschluß an die vorstehenden Ausführungen mag noch kurz auf den Stickstoffgehalt eines aus der Aspergillus-Kulturflüssigkeit ausgefällten „Humin"-Präparats mitgeteilt werden. Es wurde aus einer KNO_3 als Stickstoffquelle enthaltenden Nährlösung gewonnen, die mehrere Wochen alt und tief rotbraun verfärbt war (sie diente zur Gewinnung des von *Bortels* (l. c.) erwähnten Farbstoffs). Die braune Verfärbung der Kulturflüssigkeit zeigte an, daß aller Zucker verbraucht und kräftig Autolyse eingetreten war. Die Kulturflüssigkeit wurde klar filtriert und mit Salzsäure versetzt, wobei ein braunflockiger „humin"artiger Niederschlag ausfiel. Dieser wurde abfiltriert, in Natronlauge gelöst und wiederum mit Salzsäure gefällt. Dieses Präparat ergab einen Stickstoffgehalt von 7,12%. Es ist also ein Stickstoffgehalt, der von dem des Tyrosins nicht sehr verschieden ist, so daß hier also eine unmittelbare Entstehung daraus angenommen werden könnte; denn die braune Verfärbung der den Stoff enthaltenden Kulturflüssigkeit tritt erst mit Beginn der Eiweißhydrolyse ein. (Über diese Vorgänge wird später von anderer Seite eingehender berichtet werden.) Da man aber nicht wissen kann, was für Stoffe sonst noch aus der Kulturflüssigkeit durch die Salzsäure abgeschieden bzw. von dem Niederschlag adsorbiert worden sind, so läßt sich dieser Schluß natürlich nicht ziehen. Ebensowenig läßt sich zurzeit erkennen, ob dieser Stoff der Kulturflüssigkeit mit dem Aspergillin identisch oder wenigstens verwandt oder von ihm gänzlich verschieden ist.

Zusammenfassung.

Es wurde der Stickstoffgehalt des schwarzen Sporenfarbstoffs von *Aspergillus niger* (des „Aspergillins" *Linossiers*) untersucht und bei unter- und überoptimaler Stickstoffversorgung gleich gefunden, verschieden allerdings bei den einzelnen Fraktionen. Die alkohollösliche Fraktion enthielt 3,3%, die alkalilösliche etwa 1% mehr. Es kann aber nicht gesagt werden, ob es sich bei diesem Unterschied zwischen den einzelnen Fraktionen um eine chemische Veränderung oder um Verunreinigungen handelt. Jedenfalls aber zeigte die Gleichheit des Stickstoffgehalts der entsprechenden Fraktionen bei sehr verschiedener Stickstoffernährung, daß es sich bei der Bildung des Aspergillins um einheitliche chemische Vorgänge handeln dürfte, nicht um ein zufälliges Gemisch von Stoffen, etwa wie es bei der Humusbildung der Fall zu sein scheint.

Vitalfärbung und Adsorption.

Von

Hans Adolf Krebs und **David Nachmansohn.**

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 5. Mai 1927.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

I. Ausgangspunkt der Arbeit.

Nach Versuchen von *H. Freundlich* und *A. Poser*[1])[2]) adsorbieren Bolus (= Kaolin) und Fasertonerde eine Reihe basischer Farbstoffe in der gleichen Folge, und zwar lautet diese

Chrysoidin > Malachitgrün > Auramin > Methylenblau > Methylgrün.

Vergleichen wir mit dieser Reihe das Vitalfärbungsvermögen derselben Farbstoffe nach Versuchen von *E. Nirenstein*[3]) (Tabelle I), so finden wir zwischen Adsorbierbarkeit und Vitalfärbungsvermögen der Farbstoffe einen auffallenden Parallelismus. Von dieser Tatsache ausgehend, haben wir Adsorption und Vitalfärbungsvermögen einer Reihe weiterer Farbstoffe gemessen und auch bei diesen einen Parallelismus gefunden[4]).

Tabelle I.

Vergleich der Aufnahme von basischen Farbstoffen durch lebende Paramaecien (nach Versuchen von *Nirenstein*) mit ihrer Aufnahme durch Bolus und Fasertonerde (nach Versuchen von *Freundlich* und *Poser*).

Farbstoff	Vitalfärbende untere Grenzkonzentration für Paramaecien nach *Nirenstein*	Von 1 g Adsorbens aufgenommene Farbstoffmenge in Mikromolen bei einer Konzentration von 1 Mikromol in der Lösung nach *Freundlich* und *Poser*	
		Adsorption an Bolus alba	Adsorption an Fasertonerde
Methylgrün . .	1 : 6 000	23,9	4,37
Methylenblau . .	1 : 30 000	25,7	5,42
Auramin	1 : 125 000	38,8	9,68
Malachitgrün . .	1 : 600 000	49,7	32,1
Chrysoidin . . .	1 : 1 500 000	59,8	94,4

[1]) *H. Freundlich* und *A. Poser*, Kolloidchem. Beih. **6**, 297, 1914.

[2]) *H. Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., S. 284.

[3]) *E. Nirenstein*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **179**, 233, 1920.

[4]) Vgl. die Literatur über Vitalfärbung und Adsorption bei *R. Höber*, Physik. Chem. d. Zelle u. d. Gewebe, 6. Aufl., besonders S. 554ff.

Als Adsorbens wählten wir für unsere Versuche Kaolin (Aluminiumsilikat) von *Kahlbaum*, als Vitalfärbungsobjekt, wie *Nirenstein*, Paramaecium caudatum. Was nun Adsorbierbarkeit und Vitalfärbungsvermögen der *basischen* Farbstoffe anbetrifft, so weiß man schon, daß sie alle sowohl von Kaolin[1]) als auch von lebenden Paramaecien gut aufgenommen worden[2]). Aus Tabelle I ist bereits zu ersehen, daß quantitativen Unterschieden der Adsorbierbarkeit auch Unterschiede des Vitalfärbungsvermögens entsprechen.

Die *sauren* Farbstoffe dagegen werden nach den Angaben von *Freundlich* und *Poser* sowie von *Michaelis* und *Rona*[1]) u. a. im *allgemeinen* von Kaolin *nicht* adsorbiert, wohl aber färben eine Anzahl von ihnen, wie *Nirenstein* fand, Paramaecien vital. So mußte also zunächst untersucht werden, ob und in welchem Maße die *sauren* Vitalfarbstoffe an Kaolin adsorbierbar sind[3]).

II. Messung der Adsorption der Farbstoffe.

Eine gewogene Menge Kaolin wurde zu 50 ccm Farbstofflösung von bekannter Konzentration hinzugegeben. Dann wurde 30 Minuten lang bei Zimmertemperatur in der Schüttelmaschine geschüttelt. Wir haben uns davon überzeugt, daß innerhalb dieser Zeit Adsorptionsgleichgewicht eintrat. Nach dem Schütteln zentrifugierten wir das Kaolin ab und bestimmten die Farbstoffkonzentration in der Lösung mit dem Chromophotometer von *Plesch*.

Die Konzentration des Farbstoffs in der Lösung nach Einstellung des Adsorptionsgleichgewichts (c) drücken wir aus in Milligramm Farbstoff pro 100 ccm Lösung[4]), die adsorbierten Farbstoffmengen (x) in Milligramm aufgenommenen Farbstoffs pro Gramm Adsorbens. Von jedem der Farbstoffe — soweit sie überhaupt meßbar adsorbiert wurden — haben wir mindestens drei zusammengehörige Wertepaare von c und x gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle II und Abb. 1 und 2 wiedergegeben.

Aus Tabelle II und den Abb. 1 und 2 geht hervor, daß die Adsorbierbarkeit der untersuchten sauren Farbstoffe an Kaolin sehr verschieden ist. Azorubin S, Chromotrop 8 B, Ponceau 5 R, Naphtholgelb und Uranin werden unter den gewählten Versuchsbedingungen überhaupt nicht meßbar adsorbiert. Stark adsorbiert werden von den

---

[1]) Z. B. *L. Michaelis* und *P. Rona*, diese Zeitschr. **97**, 57, 1919.

[2]) *E. Nirenstein*, l. c.

[3]) Der J.-G.-Farbenindustrie-Aktiengesellschaft danken wir auch hier für die Überlassung der Farbstoffe.

[4]) Auf die Angabe der Molarität müssen wir verzichten, da unsere Farbstoffe technische Präparate mit erheblichen verunreinigenden Beimengungen waren.

Tabelle II.

Adsorption von sauren Teerfarbstoffen durch Kaolin.

Farbstoff	c (Farbstoffkonzentration in d. Lösung in mg-%)	x (von 1 g Kaolin aufgenommene Farbstoffmenge in mg)
A. Azofarbstoffe.		
Tuchscharlach G (*Kalle*)	0,22	1,56
	0,6	2,8
	1,6	4,8
	4,0	8,0
Toluylenorange G (Agfa)	2,4	7,9
	3,2	13,8
	3,8	20,4
Benzoazurin G (Agfa)	0,98	1,84
	3,90	2,94
	14,50	2,80
Echtrot A (Bayer)	1,69	1,68
	3,12	2,87
	10,50	4,60
Brillantorange R (Höchst)	0,75	0,422
	2,32	0,477
	4,66	0,987
Trypanblau (*Grübler*)	0,56	0,17
	1,69	0,41
	4,12	0,44
Orange II B (Bayer)	1,87	0,30
	4,25	0,38
	9,00	0,48
Orange IV (Bayer)	2,05	0,23
	3,0	1,00
	4,3	2,85
	5,4	7,30
Azorubin S (Agfa)	10,0	0
Chromotrop 8 B (Höchst)	10,0	0
Ponceau 5 R (Höchst)	10,0	0
B. Triphenylmethanfarbstoffe.		
Säureviolett 4 B extra (Bayer)	0,422	1,89
	1,19	3,50
	3,13	6,70
Säureviolett 7 B (B.A.S.F.)	0,30	2,23
	2,75	3,58
	8,00	5,42
Echtgrün extra (Bayer)	1,40	1,00
	2,30	2,40
	4,10	4,90
Guineagrün (Agfa)	1,75	1,55
	3,80	2,90
	8,30	5,50
Säureviolett 6 BN (B. A. S. F.)	1,44	0,49
	3,40	0,81
	8,00	0,84
Wollgrün S (B. A. S. F.)	4,00	0,50
	7,50	1,10
	15,30	2,00
Patentblau V superfein (Höchst)	9,25	0,13
C. Nitrofarbstoff.		
Naphtholgelb (Agfa)	10,0	0
D. Phthaleinfarbstoff.		
Uranin (*Kahlbaum*)	10,0	0

Azofarbstoffen besonders Tuchscharlach G, Toluylenorange G, Benzoazurin G und Echtrot A, von den Triphenylmethanfarbstoffen besonders Säureviolett 4 B extra, Echtgrün, Säureviolett 7 B und Guineagrün.

Die x—c-Kurven zeigen großenteils anomale Adsorptionsverhältnisse. Die $\log x$ — $\log c$-Kurven[1]) sind bei Tuchscharlach G, Toluylenorange, Orange IV, Säureviolett 4 B extra, Säureviolett 7 B, Echtgrün extra, Guineagrün und Wollgrün S gerade Linien. Bei den Farbstoffen Benzoazurin G, Trypanblau, Orange II B tritt eine Sättigung der Kaolinoberfläche ein. Bei mehreren Triphenylmethanfarbstoffen (z. B. Guineagrün, Wollgrün S) verläuft die x—c-Kurve nahezu geradlinig; hier erfolgt also

[1]) Diese Kurven sind hier nicht wiedergegeben.

die Verteilung des Farbstoffs zwischen Lösungsmittel und Adsorbens wie zwischen zwei Lösungsmitteln, wo das *Henrysche* Gesetz gültig ist[1]). Auffällig ist die Kurve des Orange IV: mit zunehmender Konzentration nimmt — in dem untersuchten Konzentrationsbereich — die Adsorption zu. Die Ursachen dieser anomalen Adsorptionen soll hier nicht erörtert werden[2]).

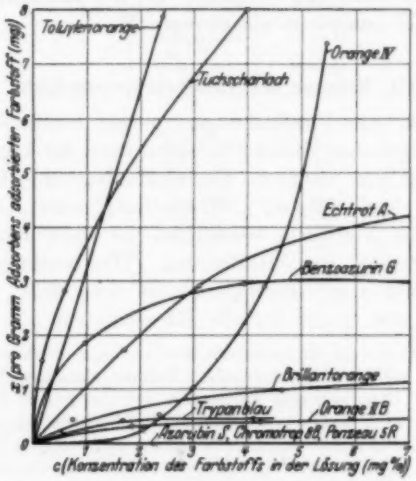


Abb. 1. Adsorption von sauren Azofarbstoffen durch Kaolin.

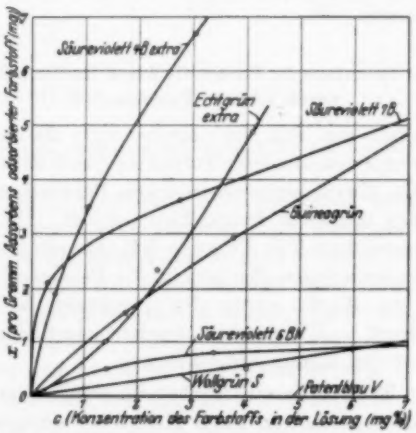


Abb. 2. Adsorption von sauren Triphenylmethanfarbstoffen durch Kaolin.

[1]) Vgl. hierzu *K. H. Meyer*, Naturwissenschaften **15**, 129, 1927.

[2]) Vgl. *H. Freundlich*, Kapillarchemie; ferner besonders *H. Marc*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **75**, 710, 1911; **81**, 641, 1913; *W. Biltz* und *Steiner*, Kolloidzeitschr. **7**, 113, 1910.

Da die Adsorptionskurven der verschiedenen Farbstoffe nicht affine[1]) Kurven sind, kann man nur mit Einschränkungen davon sprechen, daß ein Farbstoff besser oder schlechter adsorbierbar ist als ein anderer. So wird beispielsweise bei der Konzentration 1 mg-% in der Lösung Benzoazurin G stärker, bei der Konzentration 5 mg-% jedoch schwächer adsorbiert als Orange IV.

III. Messung des Vitalfärbungsvermögens.

Als Maß für das Vitalfärbungsvermögen benutzten wir die Bestimmung der kleinsten Farbstoffkonzentration der Lösung, die innerhalb 20 Stunden eine sichtbare Farbstoffablagerung in den lebenden Paramaecien — gleichgültig ob „Diffusfärbung" oder „Granulafärbung" — erzeugt. Mit *Nirenstein* bezeichnen wir diese Konzentration als „Grenzkonzentration" der Vitalfärbung. Wir bestimmten die Grenzkonzentration mit einer Genauigkeit von etwa 25%. Die Resultate der Messungen sind in der Tabelle III enthalten.

Unsere Werte für die Grenzkonzentration liegen bei kleineren Farbstoffkonzentrationen als die *Nirenstein*schen Zahlen. In einer Reihe von Fällen mag dies darauf beruhen, daß *Nirenstein* die Farbstoffe kürzere Zeit einwirken ließ als wir; in anderen sind jedoch die Differenzen zwischen unseren Befunden und den *Nirenstein*schen Angaben nicht durch Unterschiede der Versuchsanordnung zu erklären, beispielsweise beim Benzoazurin G. Bei *Nirenstein* färbt Benzoazurin G Paramaecien gar nicht vital, während wir noch bei einer Konzentration 1 : 100000 eine starke vitale Granulafärbung beobachteten.

IV. Vergleich der Aufnahme der Farbstoffe durch Kaolin mit ihrer Aufnahme durch lebende Paramaecien.

Die Aufnahme der von uns untersuchten 20 sauren Farbstoffe durch Kaolin, verglichen mit ihrer Aufnahme durch lebende Paramaecien (vgl. Tabelle III), ergibt einen ebensolchen Parallelismus, wie er nach Tabelle I bei den basischen Farbstoffen vorliegt. Die fünf Farbstoffe Azorubin S, Chromotrop 8 B, Ponceau 5 R, Uranin und Naphtholgelb, die nicht in nachweisbaren Mengen in die Paramaecien eindringen[2]), werden auch von Kaolin unter den gegebenen Bedingungen nicht meßbar adsorbiert. Umgekehrt werden sämtliche vitalfärbenden Farbstoffe auch von Kaolin aufgenommen.

Die sauren Triphenylmethanfarbstoffe werden im allgemeinen — bei gleicher Adsorbierbarkeit durch Kaolin — weniger gut von Paramaecien aufgenommen als Azofarbstoffe. Ordnet man aber Azofarb-

[1]) Siehe *W. Mecklenburg*, Zeitschr. f. physikal. Chem. **83**, 609, 1913.
[2]) Die höchste von uns angewandte Farbstoffkonzentration war bei diesen fünf Farbstoffen 1 : 400.

Tabelle III.

Vergleich der Aufnahme von sauren Farbstoffen durch lebende Paramaecien mit ihrer Aufnahme durch Kaolin.

Farbstoff	Grenzkonzentration der Vitalfärbung (Teile Lösungsmittel auf 1 Teil Farbstoff)	Art der Vitalfärbung (D = Diffusfärbung, G = Granulafärbung)	Von 1 g Kaolin aufgenommene Farbstoffmenge (in mg)*) bei der Farbstoffkonzentration in der Lösung	
			1 mg-%	3 mg-%
A. Azofarbstoffe.				
Tuchscharlach G	300 000	D	3,6	6,8
Tolylenorange	100 000	D	3,2	12,0
Benzoazurin G	100 000	G	1,9	2,8
Echtrot A	60 000	D	1,1	2,8
Brillantorange	25 000	D	0,4	0,8
Orange II B	12 000	D	0,2	0,4
Orange IV	7 000	D	0,05	1,0
Trypanblau	4 000	G	0,3	0,4
Ponceau 5 R	—	—	0	0
Azorubin S	—	—	0	0
Chromotrop 8 B	—	—	0	0
B. Triphenylmethanfarbstoffe.				
Echtgrün extra	30 000	D	0,7	3,1
Säureviolett 4 B extra . . .	25 000	G	3,3	6,6
Guineagrün	20 000	D	1,0	2,4
Säureviolett 6 BN	20 000	G	0,4	0,7
Säureviolett 7 B	12 000	G	2,8	3,7
Wollgrün S	12 000	G	0,2	0,4
Patentblau V	4 000	D	0	0
C. Nitrofarbstoff.				
Naphtholgelb	—	—	0	0
D. Phthaleinfarbstoff.				
Uranin	—	—	0	0

*) Die Zahlen sind der graphischen Darstellung (Abb. 1 und 2) entnommen.

stoffe und Triphenylmethanfarbstoffe gesondert einmal nach ihrem Vitalfärbungsvermögen und zweitens nach ihrer Aufnahmefähigkeit durch Kaolin (vgl. die Zahlen der Spalten 2 und 4 in Tabelle III), so findet man innerhalb der Azofarbstoffe eine nahezu vollständige, innerhalb der Triphenylmethanfarbstoffe eine weitgehende Übereinstimmung der beiden Reihen[1]). Die größere Deutlichkeit des Parallelismus bei den Azofarbstoffen gegenüber den Triphenylmethanfarbstoffen erklärt sich aus der Tatsache, daß die Unterschiede im

[1]) Da, wie oben erwähnt, die Adsorptionskurven der verschiedenen Farbstoffe nicht affine Kurven sind, so ist die Reihenfolge der Farbstoffe geordnet nach der Aufnahme durch Kaolin eine etwas — nicht sehr wesentlich — verschiedene, je nachdem welcher Abszissenwert der Kurven 1 und 2 für den Vergleich der Ordinatenwerte gewählt wird.

Vitalfärbungsvermögen bei den Azofarbstoffen beträchtlich, bei den Triphenylmethanfarbstoffen aber nur unwesentlich sind.

Der Parallelismus zwischen Vitalfärbungsvermögen der Farbstoffe und ihrer Adsorbierbarkeit durch Kaolin ist nach unseren Versuchsergebnissen noch weitgehender als der von *Nirenstein* gefundene Parallelismus zwischen Vitalfärbungsvermögen und der Aufnahme durch das Diamylaminölsäuregemisch[1]). Es liegt nun gar kein Grund vor, bei der Erklärung des Vitalfärbungsvermögens der Farbstoffe ihre Fähigkeit der „Lipoidlöslichkeit" zu bevorzugen. Die *Nirenstein*sche Lipoidtheorie der Paramaecienvitalfärbung[2]) ist daher zu verlassen. Aus der Tatsache, daß chemisch so verschiedenartige Stoffe wie Kaolin, das *Nirenstein*sche Gemisch und Paramaecienprotoplasma Farbstoffe in ähnlicher Reihenfolge aufnehmen[3]), folgern wir, daß bei der Bindung der Farbstoffe an alle diese Körper ein unspezifischer Oberflächenprozeß, eine Adsorption, die Hauptrolle spielt. Denn Adsorptionen sind innerhalb gewisser Grenzen[4]) von der chemischen Natur des Adsorbens unabhängig.

---

[1]) Ein Farbstoff, bei dem das *Nirenstein*sche Gemisch gänzlich versagt, ist Benzoazurin G. Benzoazurin G wird nach *Nirenstein* (was wir bestätigen können) von dem Ölgemisch nicht aufgenommen, während der Farbstoff Paramaecien (wie wir im Gegensatz zu *Nirenstein* finden) noch in hoher Verdünnung (1 : 100000) vital färbt.

[2]) Was die Vitalfärbung anderer Zellen anbetrifft, so verhalten sich nach Versuchen von *T. Seo* (Pflügers Arch. **201**, 603, 1923) rote Blutkörperchen des Rindes, Darmepithelien des Frosches und das Infusor Opalina ähnlich Paramaecien, anders verhalten sich eine Reihe von pflanzlichen Zellen (*Collander*, Jahrber. f. wissenschaftl. Botanik **60**. 354, 1921).

[3]) Auch bei der Aufnahme verschiedener basischer Farbstoffe durch Lecithinxylol, die *v. Möllendorff* gemessen hat (Arch. f. mikr. Anat. **90**, 503, 1918), findet man eine ähnliche Reihenfolge, wie sie nach Tabelle I für die Adsorption an Bolus und Tonerde und für die Paramaecienvitalfärbung gefunden ist, ferner auch bei der Adsorption der Farbstoffe durch Kohle (*Freundlich* und *Poser*, l. c.).

[4]) Vgl. hierzu *H. Freundlich*, Kapillarchemie, 2. Aufl., S. 253; *L. Michaelis* und *P. Rona*, diese Zeitschr. **102**, 268, 1920.

Über die Verwendung von Chromatlösungen als Vergleichslösungen bei kolorimetrischen Messungen.

Von

Holger Jørgensen.

(Mitteilung vom Laboratorium der A.-G. Dansk Gaerings-Industri, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 6. Mai 1927.)

Infolge ihrer gelben bis rotgelben Farbe lassen sich Alkalichromat- und Alkalibichromatlösungen oft als Vergleichslösungen bei kolorimetrischen Messungen anwenden.

Willstätter und *Stoll*[1]) haben so z. B. Lösungen von Kaliumbichromat als Vergleichslösungen bei der Bestimmung von Carotin und Xanthophyll benutzt. In der Ölindustrie werden Bichromatlösungen bei der Bestimmung der Farbe von fetten Ölen angewandt. *B. Lampe*[2]) hat vorgeschlagen, Lösungen von Kaliumbichromat (und Kobaltnitrat) als Vergleichslösungen bei der Bestimmung der Farbe der Bierwürze und des Bieres zu verwenden. *L. W. Winkler*[3]) wendet Kaliumchromatlösungen als Vergleichslösungen bei einer kolorimetrischen Kieselsäurebestimmung an.

Es sind auch verschiedene Vorschläge gemacht worden, Chromatlösungen als Vergleichslösungen bei den kolorimetrischen Bestimmungen von p_H als sogenannte „Dauerreihen" zu verwenden.

Windisch, Dietrich und *Kolbach*[4]) haben so z. B. Lösungen von K_2CrO_4 und $K_2Cr_2O_7$ in Wasser als „Ersatzdauerreihen" für verschiedene Nitro- und Dinitrophenole angewandt. (Die bei *Michaelis'* bekannten Methoden angewandten Indikatoren.) *I. M. Kolthoff*[5]) hat Chromat- und Bichromatlösungen in ähnlicher Weise angewandt.

---

[1]) *Willstätter* und *Stoll*, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, S. 25. Berlin 1918.

[2]) Wochenschr. f. Brauerei **39**, 235, 1922.

[3]) Siehe *Lunge-Berl*, Untersuchungsmethoden, 7. Aufl., **1**, 502, 1921.

[4]) Wochenschr. f. Brauerei **39**, 79, 1922.

[5]) Der Gebrauch von Farbindikatoren, 3. Aufl., S. 167. Berlin, Julius Springer, 1926; siehe auch *A. Janke* und *St. Kropacsy*, diese Zeitschr. **174**, 127, 1926.

Zur Untersuchung der Farbe des Weizenmehls hat in den letzten Jahren die sogenannte Gasolinmethode viel Anwendung gefunden, besonders in Amerika. Nach dieser ausgezeichneten Methode, die zuerst von *Winton*[1]) beschrieben worden ist, wird das Mehl unter bestimmten Bedingungen mit farblosem Benzin ausgezogen. Die Farbe des dadurch entstandenen Benzinextraktes wird dann mit der Farbe einer Kaliumchromatlösung verglichen. *Winton* braucht eine 0,005 % Lösung in Wasser.

Bei Arbeiten, die der Verfasser zurzeit mit Untersuchungen der Farbe von Weizenmehl vornimmt, bin ich gelegentlich Unterredungen mit anderen, die mit dieser Gasolinmethode gearbeitet haben, darauf aufmerksam geworden, daß, während *Winton* eine dünne *Chromat*lösung als Vergleichslösung vorzieht, andere der Ansicht sind, daß dünne *Bichromat*lösungen besser sind, da der ganz schwach rötliche Ton dieser Lösungen besser zu den Farbentönen zu passen scheint, die die Benzinextrakte vom Mehl haben. Diese fehlende Übereinstimmung, welchen von den beiden Stoffen, Kaliumchromat oder Kaliumbichromat man bei diesen Farbenbestimmungen anwenden sollte, hat mich veranlaßt, eine ganz kurze Untersuchung vorzunehmen, worüber ich hier gern berichten möchte.

I.

Es würde zu weit führen, hier von den zahlreichen Untersuchungen zu berichten, die im Laufe der Jahre vorgenommen sind, um zu konstatieren, welche Konstitution wässerige Lösungen von Chromsäure und Chromaten haben. Ich will diesbezüglich auf die ausführliche, kritische Übersicht verweisen, die *J. Koppel* über diese Untersuchungen in Abegg-Auerbachs Handbuch der anorganischen Chemie[2]) gegeben hat, und ferner auf die späteren Mitteilungen von *N. R. Dhar*[3]), *Auerbach*[4]) und *Britton*[5]). Die Ansichten der verschiedenen Forscher stimmen noch nicht ganz überein.

Wenn man die Resultate dieser vielen Untersuchungen kurz zusammenfassen wollte, müßte dies, finde ich, in folgenden fünf Punkten geschehen:

1. Bei Lösungen von Chromsäure, Chromaten und Bichromaten muß man, wenn man von den konzentrierten Lösungen absieht, mit dem Vorhandensein folgender chromhaltigen Ionen rechnen:

$$HCrO_4', \; CrO_4'', \; HCr_2O_7' \text{ und } Cr_2O_7''.$$

[1]) Bulletin 137 von U. S. Department of Agriculture (Bureau of Chemistry) 1911, S. 144.
[2]) Abegg-Auerbachs Handb. d. anorgan. Chem. **4**, 1. Leipzig 1921.
[3]) Zeitschr. f. allgemein. u. anorgan. Chem. **121**, 99, 1922.
[4]) Ebendaselbst **126**, 54, 1923.
[5]) Journ. chem. Soc. (London) **125**, 1572, 1924.

2. Das Verhältnis zwischen den vorhandenen Mengen $HCrO_4'$ und CrO_4'' hängt von der Wasserstoffionenkonzentration (p_H) in der Lösung ab.

3. Das Verhältnis zwischen den vorhandenen Mengen HCr_2O_7' und Cr_2O_7'' ist ebenfalls von dem p_H in der Lösung abhängig.

4. Das Verhältnis zwischen den vorhandenen Mengen Cr_2O_7'' und $HCrO_4'$ ist dagegen von der Verdünnung der Lösung abhängig ($Cr_2O_7'' + H_2O \rightarrow 2\,HCrO_4'$).

5. Die Säure[1]) $HCrO_4'$ ist schwach. Die Dissoziationskonstante liegt zwischen 10^{-6} und 10^{-7}.

Diese Ionen haben nun *verschiedene Farben*: CrO_4'' ist gelb, und die anderen sind vermeintlich rot oder rotgelb. Aus der vorstehend gegebenen kurzen Übersicht ist ersichtlich, daß außer der Verdünnung auch das p_H eine entscheidende Rolle betreffs der Größe des Mengenverhältnisses zwischen diesen Ionen spielt. *Dies bedeutet wiederum, daß Lösungen von Chromaten und Bichromaten als Lösungen von Wasserstoffionenindikatoren anzusehen sind.*

Diese Auffassung der Chromat- und Bichromatlösungen als Indikatoren liegt ja implizite in den vorerwähnten Untersuchungsresultaten, aber ich habe sie vorher noch nie angeführt gesehen.

Davon, daß Chromat- und Bichromatlösungen wirklich Wasserstoffionenindikatoren sind, kann man sich leicht durch einfache Versuche überzeugen.

Versuch 1.

Es wurden von *Sørensens* bekannten Phosphatmischungen[2]) sieben hergestellt, nämlich: 0,1, 0,25, 0,5, 1, 5, 8 und 9,5 „Sekundär".

Man gab 10 ccm von jeder dieser Pufferlösungen mittels Pipetten in sieben Reagenzgläser und setzte zu jedem der Gläser 1 ccm einer 2% Lösung reiner $K_2Cr_2O_7$ in Wasser hinzu. Dadurch entstand in den sieben Gläsern ein hübscher Farbenübergang von rotgelb in den sauersten Lösungen bis zitronengelb in den am wenigsten sauren Lösungen. Es dauert einige Sekunden, bis die Flüssigkeit der zuletzt erwähnten Lösungen die zitronengelbe Farbe annimmt.

Die Messungen von p_H in den Lösungen *nach* dem Zusetzen der Bichromatlösungen ergaben 4,85, 5,15, 5,45, 5,75, 6,60, 7,05 und 7,30 (20°, elektrometrische Messung).

Der schroffste Farbenübergang scheint zwischen $p_H = 6$ und $p_H = 7$ zu liegen.

---

[1]) Nach *J. N. Brønsted* (Rec. Trav. chim. Pays-Bas **42**, 718, 1923) ist es zweckmäßig, Stoffe, welche Wasserstoffionen abspalten, als Säuren zu definieren, ohne Rücksicht darauf, ob diese Stoffe elektrisch neutral oder elektrisch geladen sind.

[2]) *S. P. L. Sørensen*, Asher-Spiros Ergebn. d. Physiol. **12**, 437, 1912.

Versuch 2.

Von denselben sieben Phosphatmischungen, wie vorstehend erwähnt, wurden je 50 ccm in sieben große Reagenzgläser abpipettiert, und in jedes Glas wurden dann 5 ccm einer 0,05% Lösung K_2CrO_4 in Wasser gegeben.

Auch in diesen dünnen Chromatlösungen war ein deutlicher Farbenübergang von rotgelb bis zitronengelb ersichtlich, aber alle Farben waren natürlich bedeutend schwächer als in dem ersten Versuch.

Welch große Rolle das p_H für den Farbenton spielt, ist besonders deutlich ersichtlich, wenn man die Lösungen zwei und zwei in einem *Duboscq*-Kolorimeter vergleicht.

Die Messungen des p_H in den Lösungen *nach* dem Zusetzen der Chromatlösungen ergaben 5,15, 5,40, 5,65, 5,95, 6,85, 7,45 und 8,00 (20^0, elektrometrische Messung).

II.

Kommen wir nun zurück zur Anwendung von Chromat- und Bichromatlösungen als Vergleichslösungen bei kolorimetrischen Messungen, so geht aus dem vorstehend Gesagten unmittelbar hervor, daß die Farbe einer dünnen Lösung Chromat oder Bichromat in Wasser ganz *undefiniert ist*.

In einer solchen Lösung werden nämlich zufällige Faktoren und insbesondere der Einfluß des Alkalis des Glases das p_H ändern können und dadurch wiederum — da die Chromat- und Bichromatlösungen als Indikatoren zu betrachten sind — den Farbton der Lösung.

In diesem Verhältnis ist meiner Ansicht nach die Erklärung der Tatsache zu suchen, daß einige Forscher *Bichromat* als am geeignetsten als Farbenstandard ansehen, während andere für die gleichen Messungen *Chromat* vorziehen. Zufälligkeiten sind entscheidend, weil die Lösungen kein definiertes p_H haben.

Will man Lösungen von Kaliumchromat oder Kaliumbichromat mit gut definiertem Farbenton herstellen, so ist dies sehr leicht; anstatt Wasser als Auflösungsmittel anzuwenden, braucht man eine Puffermischung als Auflösungsmittel. Die Lösungen bekommen dann ein definiertes p_H und dadurch wiederum einen definierten Farbenton.

Die Frage, inwieweit man Kaliumchromat oder Kaliumbichromat anwenden soll, muß dahin beantwortet werden, daß dies ganz gleichgültig ist. Wenn nur das p_H das gleiche ist, muß eine Lösung von Chromat und eine Lösung von Bichromat — vorausgesetzt natürlich, daß die Konzentration von Cr in beiden Lösungen dieselbe ist — ganz denselben Farbenton haben.

Weiter wird man verstehen, daß es prinzipiell unrichtig ist, dünne Chromat- und Bichromatlösungen *in Wasser* als „Dauerreihen" bei p_H-Messungen zu brauchen. Solche Lösungen haben nach dem vorstehend Angeführten keinen definierten Farbenton.

Zusammenfassung.

1. Es wird behauptet, daß dünne, wässerige Lösungen von Chromat und Bichromat als Lösungen von Wasserstoffionenindikatoren zu betrachten sind.

2. Infolgedessen haben dünne, wässerige Chromat- oder Bichromatlösungen keinen definierten Farbenton, und es ist daher prinzipiell unrichtig, solche Lösungen bei kolorimetrischen Messungen als Vergleichslösungen zu verwenden. Aus demselben Grunde ist auch die Anwendung solcher Lösungen als „Dauerreihen" bei kolorimetrischen p_H-Bestimmungen grundsätzlich unrichtig.

3. Wenn man dagegen einer Chromat- oder Bichromatlösung dadurch ein bestimmtes p_H gibt, daß man eine Puffermischung anstatt Wasser als Auflösungsmittel braucht, bekommt die Lösung auch einen definierten Farbenton.

4. Durch Variation — durch Anwendung verschiedener Puffermischungen — des p_H in den Chromat- und Bichromatlösungen kann man den Lösungen verschiedene *definierte* rötliche oder gelbliche Farbentöne geben. Solche Lösungen können möglicherweise bei vielen kolorimetrischen Messungen von Nutzen sein.

Autorenverzeichnis.

Abderhalden, Emil und *Ernst Wertheimer*. Versuche über den Einfluß des Geschlechts auf die Alkoholwirkung. S. 252.

Abelin, I. und *B. Kobori*. Über die spezifisch-dynamische Wirkung der Nahrungsstoffe. VI. Mitteilung: Spezifisch-dynamische Wirkung und Kohlehydratumsatz. S. 3.

Andresen, Gertrud s. *C. Brahm*.

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 107. Fortgesetzte Untersuchungen über die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica. Die Blockierung der normalen Reaktion durch die intraperitoneale Injektion von destilliertem Wasser. Von *George M. Curtis*. S. 95.

— Beiträge zur Physiologie der Drüsen. Nr. 108. Fortgesetzte Untersuchungen über die Wirkungsweise der spezifischen Diuretica. Die Blockierung der normalen Reaktion bei Kaninchen mit entnervten Nieren. Von *George M. Curtis*. S. 112.

Asher, L. und *N. Scheinfinkel*. Die Umstimmung pharmakologischer Wirkungen, insbesondere autonomer Nervenendgifte durch oberflächenaktive Stoffe. S. 87.

Benedict, Cornelia Golay s. *Francis G. Benedict*.

Benedict, Francis G. und *Cornelia Golay Benedict*. Perspiratio insensibilis: Ihr Wesen und ihre Ursachen. S. 278.

Bickel, A. und *C. van Eweyk*. Über die Eigenschaften aktiver Eisenverbindungen. S. 178.

Bickel, A. und *I. Remesow*. Über die Beeinflussung des Harnquotienten C : N durch die Nahrungszusammensetzung unter besonderer Berücksichtigung der Aminosäuren. S. 54.

Bornstein, A. und *R. D. Loewenberg*. Über die Rolle des Pankreas bei einigen toxischen Glykämien. I. S. 243.

Brahm, C. Über die bei der Sauerfutterbereitung entstehenden flüchtigen Fettsäuren. II. Unter Mitarbeit von *Gertrud Andresen* und *Ruth Prillwitz*. S. 232.

Brehme, Th. und *P. György*. Untersuchungen über Höhenklimawirkung. S. 213.

Cursis, George M. s. *Leon Asher*.

Deutschberger, Otto s. *Otto Fürth*.

Eweyk, C. van s. *A. Bickel*.

Fürth, Otto und *Otto Deutschberger*. Über den Argiringehalt einiger Proteine sowie normaler und amyloidhaltiger Organe. S. 139.

Genevois, Louis. Über Atmung und Gärung in grünen Pflanzen. S. 461.

Gorbatscheff, S. W. und *E. N. Winogradowa*. Die hygroskopischen Eigenschaften von Watte und ihres Verkohlungsproduktes. S. 413.

Guzelj, L. s. *M. Samec*.

György, P. s. *Th. Brehme*.

Hausmann, W. und *O. Krumpel.* Über die Absorption der Porphyrine im Ultraviolett. S. 203.

Hirschberg, Else s. *Hans Winterstein.*

Ikebata, Toshisuke s. *J. Wohlgemuth.*

Imhäuser, K. Über das Vorkommen des Plasmalogens. II. Mitteilung: Über das Vorkommen des Plasmalogens bei Tieren. S. 360.

Jørgensen, Holger. Über die Verwendung von Chromatlösungen als Vergleichslösungen bei kolorimetrischen Messungen. S. 485.

Karčič, J. s. *M. Samec.*

Kirsch, W. s. *W. Völtz.*

Klar, Ludwig. Ketonaldehydmutase in Weizen- und Roggenkörnern sowie in Sojabohnen. S. 327.

Klinc, L. s. *M. Samec.*

Kobori, B. s. *I. Abelin.*

Krebs, Hans Adolf und *David Nachmansohn.* Vitalfärbung und Adsorption. S. 478.

Krumpel, O. s. *W. Hausmann.*

Kultjugin, Alexei. Über die Beeinflussung des Fettstoffwechsels durch Belichtung. S. 36.

Laubender, Walther. Eine Mikroharnstoffbestimmung im Harn ohne Urease. S. 158.

Lebedew, A. Über die Zucker- und Brenztraubensäuregärung. S. 376.

Leites, Samuel. Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel. IV. Mitteilung: Über die Rolle des retikulo-endothelialen Systems im Fett- und Lipoidstoffwechsel. S. 391.

— Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel. V. Mitteilung: Über die Rolle der Milz im Fett- und Lipoidstoffwechsel. S. 436.

Loewenberg, R. D. s. *A. Bornstein.*

Löhner, L. Über die Beeinflussung der Strahlen- und Wasserhämolyse durch Arsen. S. 194.

London, E. S. und *L. M. Rabinkowa.* Die Verteilung des Sauerstoffs auf einzelne Organe nach Versuchen an angiostomierten Hunden. S. 155.

Mayer, Paul. Über den Einfluß verschiedener Kohlenhydrat-phosphorsäureester auf die Angärung des Traubenzuckers. S. 313.

Molitor, Hans und *Ernst P. Pick.* Über zentrale Regulation des Wasserwechsels. IV. Mitteilung: Die Aufhebung der diuretischen Koffein- und Theobrominwirkung durch Zwischenhirnnarkose. S. 130.

Mudd, Emily B. H. s. *Stuart Mudd.*

Mudd, Stuart und *Emily B. H. Mudd.* Untersuchungen über die Zusammensetzung der Zellmembran auf Grund einer neuen Methode zur Bestimmung der Oberflächenspannung. S. 378.

Müller, Helmut. Über den „Oxydationsquotienten". S. 451.

Nachmansohn, David s. *Hans Adolf Krebs.*

Nagelschmidt, Günter. Gestufte phytochemische Reduktion. S. 317.

— Über die Fällbarkeit der Diaminosäuren durch Mercuriacetat und Soda. S. 322.

Neuberg, Carl und *Ernst Simon.* Über die quantitative Dismutation des Methylglyoxals zu Milchsäure durch den Bacillus Delbrücki sowie durch das Bacterium lactis aerogenes nebst Versuchen über das abweichende stereochemische Verhalten des Phenylglyoxals bei dieser Reaktion. S. 331.

Paechtner, J. Ein Beitrag zur Technik des Respirationsversuchs nach *J. Geppert* und *N. Zuntz.* S. 264.

Petrányi, Győző. Über die biochemischen Zusammenhänge zwischen Körperzustand, Ernährung und Resistenz der roten Blutzellen. S. 419.

Pick, Ernst P. s. *Hans Molitor.*

Pincussen, Ludwig. Methodische Mitteilungen. VII. S. 28.

Prillwitz, Ruth s. *C. Brahm.*

Rabinkowa, L. M. s. *E. S. London.*

Reitmann, J. s. *R. Wolffenstein.*

Remesow, Igor. Weitere Untersuchungen über den Einfluß der Verfütterung aktiven Eisenoxyds auf den Stoffwechsel unter besonderer Berücksichtigung der N-Bilanz und des Verhaltens des Harnquotienten C : N. S. 64.

Remesow, I. s. *A. Bickel.*

Rippel, August und *Kurt Walter.* Über den Stickstoffgehalt des Aspergillins. S. 474.

Samec, M. Studien über Pflanzenkolloide. XVIII. Mitteilung: Zur Kenntnis der Weizenstärke. Nach Versuchen von *L. Guzelj, J. Kavčič* und *L. Klinc.* S. 337.

Scheinfinkel, N. s. *L. Asher.*

Scheunert, Arthur und *Martin Schieblich.* Über das verschiedene Verhalten von Tauben und Hühnern bei Deckung ihres Vitamin-B-Bedarfs durch frisches grünes Pflanzenmaterial. S. 222.

— — Weiterer Beitrag zum Vitamingehalt des Bieres. S. 229.

Schieblich, Martin s. *Arthur Scheunert.*

Shambaugh, Noel F. s. *Leon Asher.*

Simon, Ernst s. *Carl Neuberg.*

Spiegel-Adolf, Mona. Physikalisch-chemische Untersuchungen bestrahlter Proteine. I. Mitteilung: Die Veränderungen des Seralbumins bei Ultraviolettbestrahlung und ihre Beziehungen zur Hitzegerinnung. S. 181.

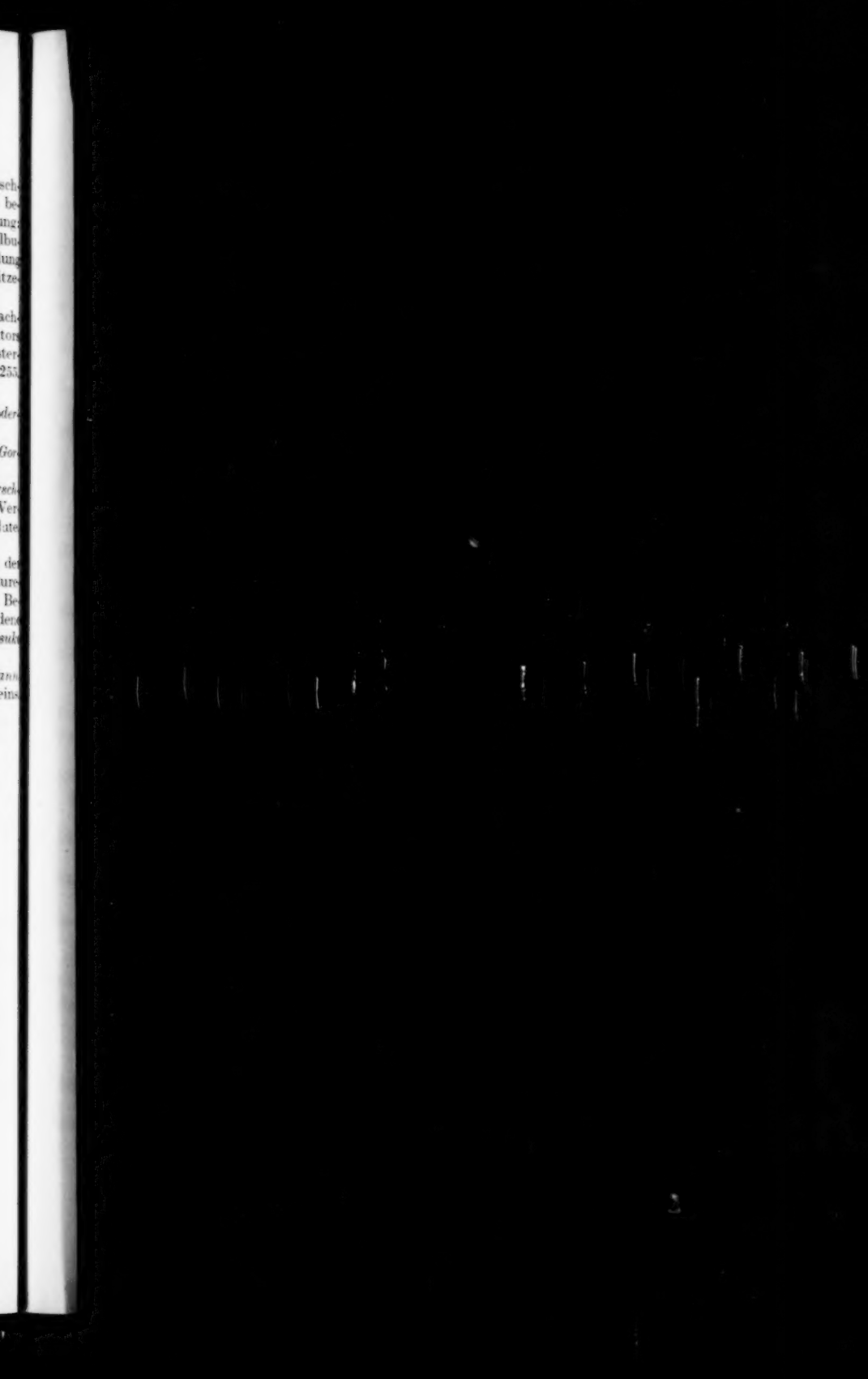
Völtz, W. und *W. Kirsch.* Der Nachweis des antirachitischen Faktors bei im Dunkeln und hinter Fensterglas gewachsenen Gräsern. S. 253.

Walter, Kurt s. *August Rippel.*

Wertheimer, Ernst s. *Emil Abderhalden.*

Winogradowa, E. N. s. *S. W. Gorbatscheff.*

Winterstein, Hans und *Else Hirschberg.* Über Löslichkeit und Verteilung des Chloroforms im Blute. S. 172.

Wohlgemuth, J. Die Fermente der Haut. VII. Über Milchsäurebildung in der Haut und ihre Beeinflussung durch verschiedene Strahlenarten. Von *Toshisuke Ikebata.* S. 43.

Wolffenstein, R. und *J. Reitmann.* Zur Kenntnis des Sparteins. S. 269.